



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ  
Διευθυντής: Καθηγητής ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ Ι. ΔΑΠΟΝΤΕ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ  
Διευθυντής: Καθηγητής ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΒΑΜΒΑΚΟΠΟΥΛΟΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ»

Διευθυντής ΠΜΣ: Καθηγητής ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ Ι. ΔΑΠΟΝΤΕ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«Επίδραση των περιβαλλοντικών παραγόντων στη μορφολογία και στην κινητικότητα του σπέρματος»

Δρ ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ Γ. ΤΡΙΓΩΝΗ  
ΒΙΟΠΑΘΟΛΟΓΟΣ

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των  
απαιτήσεων για την απόκτηση του  
Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης

ΛΑΡΙΣΑ  
Οκτώβριος 2018

**Εγκρίθηκε από τα Μέλη της Εξεταστικής Επιτροπής:**

**1<sup>ος</sup> Εξεταστής  
(Επιβλέπων)**

**Γεώργιος-Σπυρίδων Ανυφαντής,  
Επίκουρος Καθηγητής Εμβρυολογίας  
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας**

**2<sup>ος</sup> Εξεταστής**

**Χριστίνα Μεσσίνη,  
Λέκτορας Μαιευτικής και Γυναικολογίας  
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας**

**3<sup>ος</sup> Εξεταστής**

**Αλέξανδρος Δαπόντε,  
Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας  
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας**

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα αρχικά να ευχαριστήσω θερμά όλους εκείνους που συνέβαλαν, ο καθένας με τον τρόπο του στην ολοκλήρωση αυτής της μεταπτυχιακής εργασίας.

Τον Επίκουρο Καθηγητή Εμβρυολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κ. Γεώργιο Ανυφαντή για την ανάθεση του θέματος της παρούσας εργασίας, την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, αλλά και για την επιστημονική εποπτεία του σε όλη τη διάρκεια της εκπόνησής της.

Τη Λέκτορα της Μαιευτικής και Γυναικολογίας Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κ. Χριστίνα Μεσσήνη, μέλος της τριμελούς επιτροπής, για τη στήριξη της εργασίας και την καθοδήγησή της.

Τον Καθηγητή της Μαιευτικής και Γυναικολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κ. Αλέξανδρο Δαπόντε για το ενδιαφέρον του, τις συμβουλές του και την ευκαιρία που μου έδωσε να συμμετέχω στο συγκεκριμένο μεταπτυχιακό πρόγραμμα.

Θα ήθελα όμως να ευχαριστήσω και όλους τους διδάσκοντες αυτού του μεταπτυχιακού προγράμματος που με όρεξη και ζήλο, με διαλέξεις, συζητήσεις και εργαστήρια μας μετέφεραν τις γνώσεις τους και την εμπειρία τους σε ποικίλα και ενδιαφέροντα θέματα, έλυσαν τις απορίες μας και συντόνισαν τις γνώσεις μας. Ευχαριστώ πολύ και τη γραμματέα του προγράμματος, την κ. Γεωργία Κόκκα, για τη βοήθειά της και την άμεση επικοινωνία.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τις βοηθούς μου στο ιατρείο γιατί χωρίς αυτές δε θα είχα καθόλου ελεύθερο χρόνο για τις υποχρεώσεις αυτού του προγράμματος, αλλά και το σύζυγό μου Στέργιο, στήριγμά μου πάντα, καθώς και τα παιδιά μας Γιάννη και Σαββίνα για την πραγματικά μεγάλη υπομονή τους.

## ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ

Η Ευαγγελία Γ. Τριγώνη γεννήθηκε και μεγάλωσε στα Τρίκαλα.

Το Σεπτέμβριο του 1988, έχοντας τελειώσει τη φοίτησή της στο 3<sup>ο</sup> Γενικό Λύκειο Τρικάλων με Άριστα, εισήχθη με πανελλήνιες εξετάσεις στην Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Αθηνών. Προπτυχιακά, εκτός από τις υποχρεώσεις της στην Ελλάδα, παρακολούθησε σε κλινικές στο νοσοκομείο Henry Ford Detroit Michigan στις ΗΠΑ.

Πήρε το πτυχίο της Ιατρικής τον Ιανουάριο του 1995 με Λίαν Καλώς.

Υπηρέτησε ως αγροτική ιατρός στο Περιφερειακό Ιατρείο Ζηλευτής και στο Κέντρο Υγείας Φαρκαδώνας του Νομού Τρικάλων.

Ξεκίνησε την ειδικότητα Ιατρικής Βιοπαθολογίας στο Γενικό Νοσοκομείο Τρικάλων για ένα χρόνο (1996-97) και τη συνέχισε για τα υπόλοιπα τέσσερα χρόνια στο Νοσοκομείο ο Ευαγγελισμός στην Αθήνα. (1997-2001)

Είναι διδάκτωρ της Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών. Η διατριβή της έχει θέμα "Αναζήτηση και μελέτη των ειδικών αυτοαντισωμάτων στη διάγνωση, παρακολούθηση και πρόγνωση της κοιλιοκάκης".

Έχει δημοσιεύσεις σε ξενόγλωσσα επιστημονικά περιοδικά, εργασίες και ανακοινώσεις σε συνέδρια ενώ έχει παρακολουθήσει πολλά μετεκπαιδευτικά σεμινάρια, συνέδρια, ημερίδες και επιστημονικές εκδηλώσεις.

Από τον Ιούνιο του 2003 μέχρι και σήμερα διατηρεί ιδιωτικό μικροβιολογικό εργαστήριο στα Τρίκαλα.

**«ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΣΤΗ  
ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΚΙΝΗΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΟΥ  
ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ**

**ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ Γ. ΤΡΙΓΩΝΗ**

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Σχολή Επιστημών Υγείας, Τμήμα Ιατρικής, 2018

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

*ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ Ι. ΔΑΠΟΝΤΕ*

*ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΑΣ*

*ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ*

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

**Επιβλέπων:** Γεώργιος-Σπυρίδων Ανυφαντής  
Επίκουρος Καθηγητής Εμβρυολογίας  
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

**Σύμβουλος :** Χριστίνα Μεσσήνη,  
Λέκτορας Μαιευτικής και Γυναικολογίας  
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

**Μέλος :** Αλέξανδρος Δαπόντε,  
Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας  
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

## Περίληψη

Λόγω της βιομηχανοποίησης αλλά και της αλόγιστης χρήσης διάφορες τοξικές ουσίες όπως οι φθαλικές ενώσεις, τα φυτοφάρμακα, οι ατμοσφαιρικοί ρύποι, οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογάνθρακες, τα προϊόντα απολύμανσης νερού, τα βαρέα μέταλλα, οι διοξίνες, η δισφαινόλη απελευθερώνονται στο περιβάλλον από όπου και εισέρχονται στον ανθρώπινο οργανισμό με την αναπνοή, τη δερματική επαφή, τα μολυσμένα τρόφιμα και το πόσιμο νερό. Η όλο και φθίνουσα πορεία των παραμέτρων του ανδρικού σπέρματος, της κινητικότητας και της μορφολογίας, θέτει υποψίες για τον επηρεασμό τους από τους τοξικούς αυτούς περιβαλλοντικούς παράγοντες. Αποδεικνύεται *in vitro* αλλά και *in vivo* σε πειραματόζωα ότι οι τοξικές αυτές ουσίες είτε δρώντας απευθείας στους όρχεις είτε ως ενδοκρινικοί διαταράκτες, μέσω του οξειδωτικού στρες και επιγενετικών μηχανισμών, ειδικά σε μεγάλες ποσότητες, επηρεάζουν αρνητικά την κινητικότητα και τη μορφολογία των σπερματοζωαρίων. Μεγάλη ετερογένεια όμως υπάρχει στις μελέτες στον ανθρώπινο πληθυσμό και ειδικά στην έκθεση σε μικρότερες συγκεντρώσεις τοξικών ουσιών που καθημερινά υπάρχουν στο περιβάλλον. Αίτια αυτής της ετερογένειας είναι η φαρμακοκινητική και οι τρόποι μέτρησης των τοξικών ουσιών, η ποικιλότητα των μεταβολιτών τους, η δυσκολία στον προσδιορισμό της χρονικής διάρκειας της έκθεσης του ατόμου σε αυτές καθώς και οι ιδιαιτερότητες που υπάρχουν στις μελέτες που αφορούν το σπέρμα. Ανάγκη είναι να γίνουν περισσότερες προοπτικές έρευνες για τη γνώση της δράσης των περιβαλλοντικών παραγόντων στις παραμέτρους του σπέρματος συμβάλλοντας στην περιφρούρηση της υγιούς ανθρώπινης γονιμότητας

## Summary

The growth in industrialization is leading to the manufacture of various chemical products as phthalates, polychlorinated diphenyls (PCBs), polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), dioxins, heavy metals, organic solvents, pesticide and many others. In general these toxicants are directly released in the environment and reach human beings by respiration, skin exposure, contaminated food products and drinking water. The reported decline in semen quality, impaired motility and morphology, has been associated with the exposure to these toxicants. The possible mechanisms are variable. They act as endocrine disruptors, induce epigenetic modifications, produce free radicals and promote oxidative stress, altering by this way the motility and morphology of spermatozoa. In humans, however, there is insufficient evidence on male exposure to environmental toxicants, especially at low to moderate levels, and its association with sperm motility and morphology. Reasons for the discrepancies in results could include methodological differences in study populations, exposure levels and duration, the variability of metabolites and their pharmacokinetics. Clearly, further prospective studies are needed to clarify the role of environmental contaminants on sperm parameters which is necessary in order to ensure a safe reproductive health for all living organisms.

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

#### 1.1 ΓΕΝΙΚΑ

#### 1.2 ΦΘΙΝΟΥΣΑ ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ

#### 1.3 ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΣΠΕΡΜΑΤΟΖΩΑΡΙΟΥ

##### 1.3.1 ΣΤΑΔΙΑ ΣΠΕΡΜΑΤΟΓΕΝΕΣΗΣ

##### 1.3.2.ΣΠΕΡΜΙΟΓΕΝΕΣΗ

##### 1.3.3 ΑΙΜΑΤΟΟΡΧΙΚΟΣ ΦΡΑΓΜΟΣ (ΒΤΒ)

##### 1.3.4. ΚΥΤΤΑΡΑ SERTOLI-ΡΟΛΟΣ ΟΡΜΟΝΩΝ

### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ

#### 2.1 ΤΙΜΕΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ

#### 2.2. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΚΙΝΗΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΠΕΡΜΑΤΟΖΩΑΡΙΩΝ

#### 2.3 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΙΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ ΤΟΥ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ

#### 3.1 ΗΛΙΚΙΑ

#### 3.2 ΕΝΔΟΓΕΝΗΣ ΚΑΙ ΕΠΟΧΙΑΚΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗ

#### 3.3 ΣΥΝΥΠΑΡΧΟΥΣΕΣ ΝΟΣΟΙ

#### 3.4 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΟ ΤΡΟΠΟ ΖΩΗΣ

#### 3.5 ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

#### 3.6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΣΤΗ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΚΙΝΗΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ

#### 5.1 ΔΙΣΦΑΙΝΟΛΗ Α

#### 5.2 ΦΘΑΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

#### 5.3 ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΑ

#### 5.4 ΠΡΟΙΟΝΤΑ ΑΠΟΛΥΜΑΝΣΗΣ ΝΕΡΟΥ



## **5.5 ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΙΚΟΙ ΡΥΠΟΙ**

## **5.6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**

# **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΔΡΑΣΗΣ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΣΤΗ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΚΙΝΗΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ**

## **6.1 ΓΕΝΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΔΡΑΣΗΣ**

### **6.1.1 ΟΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΩΣ ΕΝΔΟΚΡΙΝΙΚΟΙ ΔΙΑΤΑΡΑΚΤΕΣ**

### **6.1.2 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΣΤΟ ΣΠΕΡΜΑ**

### **6.1.3. ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΑΙ ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ**

## **6.2 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΔΡΑΣΗΣ ΕΠΙΜΕΡΟΥΣ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ**

### **6.2.1 ΔΙΣΦΑΙΝΟΛΗ Α**

### **6.2.2 ΦΘΑΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ**

### **6.2.3 ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΑ**

### **6.2.4 ΠΡΟΙΟΝΤΑ ΑΠΟΛΥΜΑΝΣΗΣ ΝΕΡΟΥ**

### **6.2.5 ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΙΚΟΙ ΡΥΠΟΙ**

## **6.3 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**

# **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7 ΣΥΝΟΨΗ ΜΔΕ**

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

### **1.1 ΓΕΝΙΚΑ**

Μια από τις θεμελιώδεις αρχές για την εύρυθμη λειτουργία, ύπαρξη και πρόοδο ενός οικοσυστήματος είναι η δημιουργία υγιών απογόνων. Η ραγδαία αύξηση της βιομηχανίας και ο εκμοντερνισμός τον τελευταίο αιώνα εισήγαγε μια πληθώρα συνθετικών συστατικών στο περιβάλλον των οποίων η αλόγιστη χρήση τα μετέτρεψε σε μια συνεχή απειλή για την αναπαραγωγική λειτουργία των ανθρώπων και των άλλων έμβιων όντων. Είναι πλέον φανερό ότι αυτοί οι περιβαλλοντικοί ρύποι οδηγούν σε μειωμένη αναπαραγωγική ικανότητα στους άνδρες, ενώ βλάπτουν σημαντικά τη διαδικασία της σπερματογένεσης. Όμως το πιο ανησυχητικό αποτέλεσμα αυτής της κατάστασης είναι ότι αυτές οι τοξικές ουσίες εκτός από τις διαταραχές στην ποιότητα του σπέρματος και την υπογονιμότητα που επιφέρουν στα άτομα, μπορούν να έχουν αρνητικές επιδράσεις διαμέσου των γενεών βλάπτοντας τους απογόνους. Άλλες πάλι φορές οι αναπαραγωγικές διαταραχές μπορεί μεν να έχουν ως αφετηρία τη βρεφική ηλικία ωστόσο οι όποιες αρνητικές εκφάνσεις μπορεί να υπολανθάνουν μέχρι την εφηβεία. Η μελέτη της επίδρασης αυτών των περιβαλλοντικών τοξικών ουσιών στο αναπαραγωγικό σύστημα του ανθρώπου μας βοηθά αφενός να κατανοήσουμε τους διάφορους γενετικούς και μοριακούς παράγοντες που επηρεάζουν τη σπερματογένεση και να επεκτείνουμε τις γνώσεις μας βρίσκοντας τρόπους να τις περιορίσουμε, αφετέρου τα βλαπτικά αποτελέσματά τους στην αναπαραγωγική υγεία των ζωντανών οργανισμών μας θέτουν σε επαγρύπνηση και μας κάνουν να αναλογιστούμε και να πάρουμε σωστές αποφάσεις χαράζοντας στρατηγική με αυστηρούς κανόνες για την ορθολογική χρήση τους. Μόνο έτσι θα εξασφαλιστεί και θα περιφρουρηθεί ένα ισχυρό, ποιοτικό και ασφαλές μέλλον για τους ζωντανούς οργανισμούς.

### **1.2 ΦΘΙΝΟΥΣΑ ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ**

Κατά τις τελευταίες δεκαετίες πολλές πληθυσμιακές μελέτες και συστηματικές έρευνες που διεξήχθησαν σε παγκόσμιο επίπεδο έδειξαν μία φθίνουσα πορεία στις βασικές παραμέτρους του σπέρματος. Μια μεταανάλυση που δημοσιεύτηκε το 1992 (1) υποστήριξε ότι οι συγκεντρώσεις του σπέρματος στους άνδρες σε όλο τον κόσμο, χωρίς ιστορικό υπογονιμότητας, μειώθηκε από μια μέση τιμή 133 εκατομμυρίων ανά ml το 1940 στα 66 εκατομμύρια ανά ml πενήντα χρόνια μετά, δηλαδή το 1990. Το 2000 οι Swan et al παρουσίασαν μια επικαιροποιημένη μεταανάλυση η οποία επιβεβαίωσε και ενίσχυε τα πιο πάνω ευρήματα δείχνοντας συνεχή μείωση των σπερματικών παραμέτρων (2).

Πιο πρόσφατες δημοσιεύσεις επιβεβαίωσαν ακόμα περισσότερο αυτή τη φθίνουσα τάση με μελέτες που αφορούσαν δεδομένα από διάφορες χώρες του κόσμου. Ενδεικτικά μπορούμε να αναφέρουμε ότι επηρεασμένη ποιότητα σπέρματος βρέθηκε σε άνδρες στη Γαλλία, Νέα Ζηλανδία, Ινδία, Τυνησία και Ισραήλ. Όλες αφορούσαν υγιείς άνδρες αναπαραγωγικής ηλικίας και αποδεδειγμένης γονιμότητας. (3-7)

Οι Auger et al μελέτησαν 1351 υγιείς άνδρες στην περιοχή του Παρισιού από το 1973-1992. Κάθε επόμενο ημερολογιακό έτος γέννησης των εξεταζόμενων ανδρών αντιστοιχούσε σε ετήσια μείωση της συγκέντρωσης κατά 2,6%, της κινητικότητας κατά 0.3% και του ποσοστού φυσιολογικής μορφολογίας κατά 0,7 %. (8) Σε μια μελέτη τεσσάρων διαφορετικών πληθυσμών στην Ευρώπη ομάδων ανδρών, που ζούσαν σε συγκεκριμένες περιοχές σε κάθε χώρα και είχαν έγκυες συντρόφους, βρέθηκαν διαφορές στις τιμές των παραμέτρων σπέρματος. Έχοντας λάβει υπ' όψιν την περίοδο αποχής, την ηλικία και την εποχή, η μελέτη βρήκε ότι οι συγκεντρώσεις σπέρματος στους άνδρες που κατοικούσαν στη Γαλλία και στη Δανία ήταν σημαντικά χαμηλότερες σε σχέση με αυτούς που έμεναν στη Φιλανδία. Τα επίπεδα παραγωγής σπέρματος φαίνεται ότι διαφέρουν μεταξύ διαφορετικών λαών. Εκτός από τις γενετικές διαφορές που πιθανώς έχουν ένα σημαντικό ρόλο στα αποτελέσματα αυτά, εξίσου σημαντική φαίνεται να είναι η συμβολή των περιβαλλοντικών παραγόντων. (9)

Αν και η ποιότητα του σπέρματος από μόνη της δεν είναι αρκετή για να διαγνώσει την ανδρική υπογονιμότητα, εντούτοις η εκτίμησή της, μέσω του προσδιορισμού των κλασσικών παραμέτρων του σπέρματος σε ένα εργαστήριο, είναι ένας σχετικά εύκολος τρόπος για μία πρώτη αξιόπιστη προσέγγισή της και μια καλή βάση για τη μεθόδευση της περαιτέρω διερεύνησης.

### **1.3 ΣΠΕΡΜΑΤΟΓΕΝΕΣΗ**

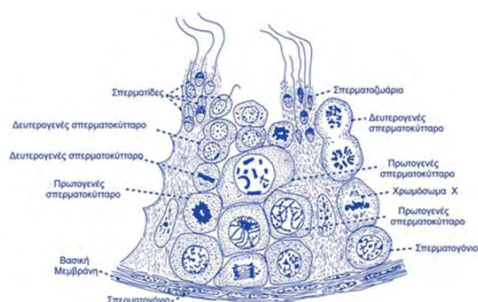
Η σπερματογένεση είναι μια δυναμική διεργασία πολλαπλασιασμού και διαφοροποίησης των γεννητικών κυττάρων που περιλαμβάνει μια καλά ρυθμιζόμενη διαδοχή μιτωτικών και μειωτικών διαιρέσεων από το στάδιο του σπερματογονίου έως το στάδιο του ώριμου σπερματοζωαρίου, η οποία λαμβάνει χώρα στο ελεγχόμενο μικροπεριβάλλον των όρχεων. Πρόγονος των σπερματογονίων που αυξάνουν με μιτωτικές διαιρέσεις πριν την είσοδό τους στη διαδικασία της διαφοροποίησης είναι το βλαστικό γεννητικό κύτταρο. Η θέση την οποία έχουν τα κύτταρα στο σπερματικό επιθήλιο δεν είναι τυχαία, καθώς υπάρχει υψηλού βαθμού αρχιτεκτονική οργάνωση: ομάδες παρόμοιων λειτουργικά κυττάρων τοποθετούνται κοντά μέσα στο σπερματικό επιθήλιο με τα πλέον άωρα κύτταρα προς τη βασική μεμβράνη και τα περισσότερο ώριμα προς τον αυλό. Τα κύτταρα Sertoli είναι συνέχεια της βασικής μεμβράνης

των σπερματικών σωληναρίων, βρίσκονται ανάμεσα στα κύτταρα της σπερματογένεσης και έχουν βασικό υποστηρικτικό και ρυθμιστικό ρόλο.

### 1.3.1 ΣΤΑΔΙΑ ΣΠΕΡΜΑΤΟΓΕΝΕΣΗΣ

Από την έναρξη της ήβης και μετά, τα σπερματογόνια, των οποίων η διάρκεια ζωής είναι 27 ημέρες, αρχικά μετατρέπονται σε πρωτοταγή σπερματοκύτταρα (σπερματοκύτταρα πρώτης τάξης). Στην πρώτη αυτή φάση της σπερματογένεσης, τα σπερματογόνια μεταναστεύουν προς τον αυλό των σπερματικών σωληναρίων, κινούμενα μεταξύ των κυττάρων Sertoli. Καθώς τα τελευταία είναι μεγάλα κύτταρα, με πλούσιο κυτταρόπλασμα, περιβάλλουν τα σπερματογόνια σε όλη τους την πορεία. Τα σπερματογόνια που περνούν τις συνδέσεις των κυττάρων Sertoli υφίστανται δομικές αλλαγές και μετατρέπονται στα μεγάλα σπερματοκύτταρα πρώτης τάξης. Κάθε πρωτοταγές σπερματοκύτταρο, που ζει 23 ημέρες, υφίσταται την πρώτη μειωτική διαίρεση και μετατρέπεται σε δύο δευτεροταγή σπερματοκύτταρα (σπερματοκύτταρα δευτέρας τάξης) που είναι μικρά, σφαιρικά, απλοειδή κύτταρα.

Τα δευτεροταγή σπερματοκύτταρα περιέχουν μικρό αριθμό χρωμοσωμάτων και ένα μόνο φυλετικό χρωμόσωμα Χ ή Υ, βρίσκονται πιο κοντά στον αυλό του σπερματικού σωληναρίου και ζούνε μία ημέρα στο τέλος της οποίας υφίστανται τη δεύτερη μειωτική διαίρεση σχηματίζοντας 4 απλοειδείς σπερματίδες. Κατά τη διάρκεια της δεύτερης αυτής διαίρεσης δεν υπάρχει άλλη ελάττωση του αριθμού των χρωμοσωμάτων. Η διαίρεση αυτή, παρότι ονομάζεται μειωτική, μοιάζει πολύ με μια απλή μιτωτική διαίρεση. (10)

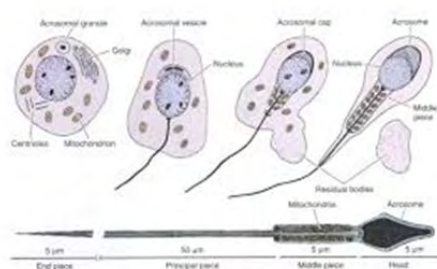


Εικ. 1 Στάδια σπερματογένεσης

### 1.3.2.ΣΠΕΡΜΙΟΓΕΝΕΣΗ

Η σπερμιογένεση (spermiogenesis) είναι η τελευταία φάση της σπερματογένεσης κατά την οποία οι απλοειδικές σπερματίδες, χωρίς περαιτέρω διαιρέσεις, μετατρέπονται σε σπερματοζώαρια. Οι βασικές μεταβολές που λαμβάνουν χώρα κατά τη διάρκεια 23 ημερών είναι ο σχηματισμός της κεφαλής και της ουράς του σπερματοζωαρίου, και η απώλεια του

κυτταροπλάσματός του. Η φάση της σπερμιόγερσης χωρίζεται σε τέσσερις επιμέρους φάσεις: Κατά την πρώτη φάση (φάση Golgi) σχηματίζεται το ακροσωμικό κυστίδιο (acrosomic vesicle), η χρωματίνη της κάθε σπερματίδας συμπυκνώνεται δημιουργώντας μια συμπαγή μάζα και ο πυρήνας περιβάλλεται από ένα μεμβρανικό παράγωγο του συστήματος Golgi. Κατά τη δεύτερη φάση (φάση Cap), το ακροσωμικό κυστίδιο μετακινείται προς τον πυρήνα της στρογγυλής σπερματίδας και αρχίζει να σχηματίζεται ο πρόδρομος της ουράς (μαστίγιο) από το κεντριόλιο. Κατά την τρίτη φάση (ακροσωμιακή φάση), ο πυρήνας της σπερματίδας επιμηκύνεται και σχηματίζεται το ακρόσωμα, που περιέχει ένζυμα απαραίτητα για τη διείσδυση του σπερματοζωαρίου στο ωάριο. Τέλος, κατά την τέταρτη φάση (φάση της ωρίμανσης), τα μιτοχόνδρια συγκεντρώνονται γύρω από το μαστίγιο, το οποίο διαμορφώνεται πλήρως. Καθώς ο σχηματισμός του σπερματοζωαρίου προχωρά, το μεγαλύτερο μέρος του κυτταροπλάσματος αποβάλλεται. Το τελικό στάδιο της μεταμόρφωσης της σπερματίδας σε σπερματοζώαριο αποτελεί ο σχηματισμός της πολύπλοκης ουράς από το αξονημάτιο (axonemal complex), που αποτελείται από δύο εσωτερικά μονά και εννέα εξωτερικά διπλά μικροσωληνάρια. Στη συνέχεια, το σπερματοζώαριο οδηγείται στην επιδιδυμίδα, όπου ωριμάζει, παραμένοντας εκεί για άλλες 21 ημέρες, και καθίσταται ικανό για γονιμοποίηση. (11)



Εικ. 2 Σπερμιόγερση

### 1.3.3 ΑΙΜΑΤΟΟΡΧΙΚΟΣ ΦΡΑΓΜΟΣ (BTB)

Ο αιματοορχικός φραγμός (blood testis barrier- BTB), που συναντάται στην επιφάνεια επαφής μεταξύ των κυττάρων Sertoli, συμπεριλαμβάνει μεμβρανικές πρωτεΐνες που σχηματίζουν στενοσυνδέσμους (tight junctions-TJs), χασματοσυνδέσμους (gap junctions-GJs) και συνδέσμους που μοιάζουν με δεσμοσώματα (desmosome like junctions), συμπλέγματα ρυθμιστικών και δομικών πρωτεϊνών, καθώς και πρωτεΐνες μεταφορείς φαρμάκων. Διαχωρίζει το σπερματικό επιθήλιο σε βασικό διαμέρισμα και παραουλικό δίνοντας το έναυσμα για τη σωστή εξέλιξη της διαδικασίας της μείωσης και της σπερμιόγερσης με διάφορους τρόπους. Έτσι δρα ως α) ένας τοίχος προστασίας ή ως μια ανοσολογική πύλη, για

το διαχωρισμό των αντιγόνων που εκφράζονται προσωρινά κατά την μεταμειωτική εξέλιξη των σπερματογονίων από το ανοσολογικό σύστημα του ξενιστή, με σκοπό την αποτροπή της παραγωγής αντισπερμικών αντισωμάτων β) ως εκλεκτικός φραγμός που καθορίζει, επιτρέπει ή εμποδίζει, τη μεταφορά θρεπτικών συστατικών, ηλεκτρολυτών, ορμονών και ουσιών που δρουν παρακρινικά ρυθμίζοντας με αυτόν τον τρόπο τόσο το είδος όσο και την ποσότητα των ουσιών που απαιτούνται για την ανάπτυξη των απλοειδικών σπερματίδων γ) επιτρέπει την είσοδο συγκεκριμένων φαρμάκων με τη βοήθεια ειδικών μεταφορέων και δ) λειτουργεί ως μια ειδική δομή που αναδιατάσσεται διευκολύνοντας τη μεταφορά των σπερματοκυττάρων πρώτης τάξης (πριν μπουν στο στάδιο της πρώτης μειωτικής διαίρεσης) διαμέσου αυτού.(12)

#### **1.3.4. ΚΥΤΤΑΡΑ SERTOLI-ΡΟΛΟΣ ΟΡΜΟΝΩΝ**

Τα Sertoli κύτταρα παρέχουν δομική, ανοσολογική και διατροφική στήριξη στα αναπτυσσόμενα αρχέγονα κύτταρα. Το κυτταρόπλασμά τους τα περιβάλλει συνεχώς σε όλη την πορεία τους και τα στάδια ωρίμανσής τους μέχρι και τη μετατροπή σε επιμηκυσμένες σπερματίδες και τελικά την απελευθέρωσή τους στον αυλό ως ώριμα σπερματοζωάρια, ενώ η κορυφαία επιφάνειά τους φτάνει στον αυλό των σπερματικών σωληναρίων και αποτελεί την περιοχή όπου είναι εμβυθισμένες και αγκιστρωμένες οι ώριμες σπερματίδες έτοιμες να απελευθερωθούν. Οι κύριες λειτουργίες των κυττάρων αυτών είναι α) στήριξη , προστασία και τροφική ρύθμιση των αναπτυσσόμενων σπερματοζωαρίων β) φαγοκυττάρωση και διάσπαση από τα λυσοσώματά τους των κυτταροπλασματικών κλασμάτων που προέρχονται κατά τη σπερματογένεση από το πλεόνασμα του κυτταροπλάσματος της σπερματίδας γ) Έκκριση πρωτεϊνών και ενζύμων που έχουν σημαντικούς ρόλους στη σπερματογένεση. Επιπλέον τα κύτταρα Sertoli έχουν όλα τα οργανίδια όπως όλα τα σωματικά κύτταρα και γονίδια που ρυθμίζουν την επιβίωση και την απόπτωση. Η ακριβής ρύθμιση της έκφρασης αυτών των γονιδίων είναι καθοριστική για να εξασφαλίσουν την επιβίωση των Sertoli τα οποία στην πλειοψηφία τους ρυθμίζονται από την FSH, την τεστοστερόνη και την οιστραδιόλη. Η δράση της θυλακιοτρόπου ορμόνης (FSH), της τεστοστερόνης, της οιστραδιόλης και η στενή τους αλληλεξάρτηση με τα κύτταρα Sertoli και Leydig είναι καθοριστική για την πορεία της σπερματογένεσης. Η FSH είναι απαραίτητη για την αύξηση του αριθμού των σπερματογονίων που θα μπουν στη μείωση και μαζί με την τεστοστερόνη ασκούν άμεσο έλεγχο στην έκφραση των γονιδίων που απαιτούνται για τη σωστή ολοκλήρωση της μείωσης και των γεγονότων μετά από αυτή. Επιπρόσθετα η τεστοστερόνη είναι απαραίτητη για τη διατήρηση του αιματοορχικού φραγμού, της διαδικασίας της μείωσης, της προσκόλλησης των αρχέγονων κυττάρων στα Sertoli καθώς και της απελευθέρωσης των σπερματοζωαρίων. Επίσης για τη σπερματογένεση σημαντικό ρόλο

έχουν πρωτεΐνες υπεύθυνες για τη ρύθμιση των διαδικασιών της μείωσης και μίτωσης καθώς και κάποιες κινάσες, κυτταροκίνες και αυξητικοί παράγοντες. (13)

Συμπερασματικά λοιπόν θα λέγαμε ότι η προσεκτική και σωστή ρύθμιση της λειτουργίας των Sertoli και των ειδικών σχηματισμών τους στην κορυφαία επιφάνειά τους συνδυαζόμενη με τη δυναμική του BTB, καθώς και η συμμετοχή των ορμονών FSH, οιστραδιόλης, τεστοστερόνης και άλλων ανδρογόνων συμβάλλουν στο σχηματισμό δομικά και λειτουργικά άρτιων σπερματοζωαρίων στο καλά ελεγχόμενο μικροπεριβάλλον των όρχεων.

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ**

### **2.1 ΤΙΜΕΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ**

Ένα δείγμα σπέρματος είναι ένα μείγμα από σπερματοζωάρια και εκκρίσεις από τον όρχι και την επιδιδυμίδα τα οποία αναμειγνύονται κατά την εκσπερμάτιση με εκκρίσεις από τον προστάτη, τις σπερματοδόχους κύστες και άλλους αδένες. Το όλο δείγμα καταλήγει να είναι ένα παχύρρευστο υγρό. Η ποιότητά του εκτιμάται κατόπιν της ανάλυσής του κατά την οποία πραγματοποιούνται διάφορες μετρήσεις τόσο των σπερματοζωαρίων, όσο και του σπερματικού πλάσματος. Τα τελευταία χρόνια ένας αριθμός από διάφορες τεχνικές έχουν αναπτυχθεί προκειμένου να υπάρχει αντικειμενική εκτίμηση των χαρακτηριστικών ενός δείγματος σπέρματος, όπως για παράδειγμα το computer-assisted semen analysis (CASA). Η κλασική μέθοδος ανάλυσης του σπέρματος όμως, ακόμα και σήμερα, θεωρείται ως η πιο αξιόπιστη. Μια τυπική ανάλυση σπέρματος περιλαμβάνει εκτίμηση συγκεκριμένων παραμέτρων όπως

- ✓ Όγκο
- ✓ Κινητικότητα
- ✓ Μορφολογία
- ✓ Συγκέντρωση
- ✓ Ζωτικότητα
- ✓ Ρευστότητα – Ιξώδες καθώς και
- ✓ Ποσοτικοποίηση και αναγνώριση μη-σπερματικών κυττάρων και την ανίχνευση αντισπερματικών αντισωμάτων

Οι τιμές αναφοράς των παραμέτρων ενός δείγματος σπέρματος (14)(15) σύμφωνα με τον ΠΟΥ είναι οι εξής:

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΝΕΕΣ ΤΙΜΕΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΚΑΤΑ ΠΟΥ (2010) ΜΕ ΔΙΑΣΤΗΜΑΤΑ ΕΜΠΙΣΤΟΣΥΝΗΣ 95%	ΤΙΜΕΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΚΑΤΑ ΠΟΥ 1999
Όγκος σπέρματος	≥1.5 ml (1.4-1.7)	≥2 ml
Συγκέντρωση:	≥15 × 10 <sup>6</sup> /ml (12-16)	≥20 × 10 <sup>6</sup> /ml
Ολικός αριθμός:	≥39 × 10 <sup>6</sup> /ml (33-46)	≥40 × 10 <sup>6</sup> /ml
Κινητικότητα	≥32% (31-34) με προωθητική κινητικότητα (κατηγορίες α+β) εντός 60 min από την εκσπερμάτιση	≥50% με προωθητική κινητικότητα (κατηγορίες α+β) ή ≥25% με ταχεία προωθητική κινητικότητα κατηγορία (κατηγορία α) εντός 60 min από την εκσπερμάτιση
Ολική κινητικότητα	≥40% (38-42) με προωθητική και επιτόπια κινητικότητα (κατηγορίες (α+β+γ) εντός 60 min από την εκσπερμάτιση	
Μορφολογία	≥4% (3-4) κατά Tygerberg	≥15% κατά ΠΟΥ ή ≥14% κατά Tygerberg και δείκτης τερατοζωοσπερμίας <1.6
Ζωτικότητα	≥58% (55-63) ζώντα (μη κεχρωσμένα)	≥75% ζώντα (μη κεχρωσμένα)

## 2.2 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΚΙΝΗΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΠΕΡΜΑΤΟΖΩΑΡΙΩΝ

### Κινητικότητα

Σε απλή αντικειμενοφόρο πλάκα σε θερμοκρασία δωματίου μεταξύ 18 και 24°C, μετά από καλή ανάδευση τοποθετείται 10μl του δείγματος σπέρματος και με μεγέθυνση 25x-40x σε ένα οπτικό μικροσκόπιο (σε μικροσκόπιο αντίθετης φάσης είναι καλύτερα) γίνεται η εκτίμηση της κινητικότητας. Σε θερμοκρασίες εκτός αυτών των ορίων μεταβολές στην κινητικότητα μπορεί να παρατηρηθούν. Η κινητικότητα θα πρέπει να εκτιμάται όσο το δυνατόν πιο γρήγορα μετά την ρευστοποίηση του δείγματος, συστήνεται να γίνεται το πολύ σε μία ώρα από την εκσπερμάτιση. Σπερματοζωάρια με κινητικότητα (α) είναι αυτά που κινούνται με ταχεία προωθητική κίνηση, καλύπτοντας μια απόσταση τουλάχιστον 20mm/sec (το μισό μήκος του σπερματοζωαρίου). Τουλάχιστον 200 σπερματοζωάρια σε διπλή μέτρηση, δηλαδή το λιγότερο 400 σπερματοζωάρια στο σύνολο, εκτιμούνται με αυτόν τον τρόπο,



αποφεύγοντας πάντα την αξιολόγηση αυτών που βρίσκονται κοντά στην άκρη της καλυπτρίδας.

Η κινητικότητα των σπερματοζωαρίων εκτιμάται σύμφωνα με το νέο WHO 2010 σε τρία είδη σε αντίθεση με τους τέσσερις τύπους κινητικότητας που προτείνονταν στα προηγούμενα εγχειρίδια (α. ταχεία προωθητική, β. νωθρή προωθητική, γ. επιτόπια, δ. ακινησία)

-Κίνηση σπερματοζωαρίων (είτε κινούνται ταχέως είτε βραδέως είτε πραγματοποιούν μεγάλους κύκλους) ανεξαρτήτως ταχύτητας

-Επιτόπια κίνηση (κίνηση σε μικρούς κύκλους, κίνηση της κεφαλής ή της ουράς χωρίς να κινείται το υπόλοιπο τμήμα του σπερματοζωαρίου)

-Ακινησία

Η αλλαγή αυτή προτάθηκε λόγω της δυσκολίας που επικρατεί μεταξύ των εργαστηριακών, στην ακριβή διάκριση των σπερματοζωαρίων που κινούνται με υψηλή προωθητική ταχύτητα.

Η απλοποίηση αυτή στοχεύει στη διευκόλυνση της γενικευμένης τυποποίησης των αποτελεσμάτων, αν και σύμφωνα με κάποιους ειδικούς ο διαχωρισμός των δύο κατηγοριών προωθητικής κινητικότητας ενισχύει την κλινική σημασία της παραμέτρου

Η εκτίμηση της κινητικότητας θα πρέπει να γίνεται μόνο σε εκείνα τα σπερματοζωάρια που είναι ακέραια καθώς αυτά υπολογίζονται και στη συγκέντρωση.(14)

### **Μορφολογία**

Ένα μορφολογικά φυσιολογικό ανθρώπινο σπερματοζωάριο αποτελείται από την κεφαλή, το μέσο σώμα και την ουρά. Στην κεφαλή περιέχεται ο πυρήνας ενώ υπάρχει και το ακρόσωμα που φυσιολογικά θα πρέπει να καταλαμβάνει τα 2/3 της κεφαλής του σπερματοζωαρίου. Στο μέσο τμήμα υπάρχουν πολυάριθμα μιτοχόνδρια ενώ ακολουθεί και η ουρά που εξυπηρετεί την κίνηση του σπερματοζωαρίου, μήκος κεφαλής 4.0-5.0 μm, πλάτος κεφαλής 2.5-3.5 μm, σχήμα ομαλό ωοειδές, ακρόσωμα σε επιφάνεια 40-70% της κεφαλής, αυχένος 6-10 μm, ουρά 45 μm.

Η αξιολόγηση της μορφολογίας συνιστάται να γίνεται με τα αυστηρά κριτήρια κατά Tygerberg με χρώση κατά Παπανικολάου σε 200 τουλάχιστο σπερματοζωάρια.

Η μορφολογία των σπερματοζωαρίων όπως φαίνεται στο μικροσκόπιο δεν είναι η πραγματική μορφολογία ενός ζωντανού σπερματοζωαρίου αλλά μία εικόνα που δημιουργούμε. Αυτή η εικόνα επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες: τη σπερμιόγνεση, τη μεταφορά του σπερματοζωαρίου, την ωρίμανση και τη γήρανση, το χρόνο στο σπερματικό υγρό, την τεχνική επίστρωσης, μονιμοποίησης, χρώσης, επικόλλησης της καλυπτρίδας αλλά και την ποιότητα του μικροσκοπίου. Με μεθόδους τυποποιημένες και ελεγχόμενες ως προς την ποιότητα, μπορούμε να ελαχιστοποιήσουμε τις πηγές των σφαλμάτων που σχετίζονται

με τη διαδικασία και να εστιάσουμε τις προσπάθειες στην κατάταξη των διαφόρων μορφών σπερματοζωαρίων σύμφωνα πλέον με τα αυστηρότερα κριτήρια. (14)

### **2.3 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**

Η εκτίμηση των παραμέτρων του σπέρματος, που όπως αποδεικνύεται ήταν αρκετά ευμετάβλητες με το πέρας των χρόνων, ενέχει δυσκολίες στις οποίες εκτός από τη σωστή μεθοδολογία βασικό ρόλο παίζει και η εμπειρία και η κρίση του παρατηρητή. Η χρησιμοποίηση αναλυτών που πολλές φορές προσφέρει μια μεγαλύτερη αντικειμενικότητα στη διενέργεια των αναλύσεων φαίνεται ότι, προς το παρόν, δεν έχει βασικό ρόλο στο σπερμοδιάγραμμα. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO) με τις κατευθυντήριες οδηγίες, προσαρμοσμένες κάθε φορά στα δεδομένα της εποχής, προσπαθεί να βάλει πλαίσια και κανόνες, για τη σωστή εκτέλεση της εξέτασης του σπερμοδιαγράμματος και τη δυνητική σύγκριση των διαφόρων αποτελεσμάτων, που είναι απαραίτητη για την εκτίμηση της γονιμότητας, τόσο του κάθε ατόμου χωριστά όσο και των ομάδων, για τη σωστή και εμπειριστατωμένη εξαγωγή συμπερασμάτων στις διάφορες μελέτες.

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΙΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ ΤΟΥ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ**

### **3.1 ΗΛΙΚΙΑ**

Οι σχετιζόμενες με την ηλικία επιπτώσεις στην αναπαραγωγική λειτουργία του άνδρα αφορούν αλλαγές στο ορμονικό του προφίλ καθώς και ανατομικές –ιστολογικές μεταβολές στα όργανα του γεννητικού συστήματος με επακόλουθο, μεταξύ άλλων, τη μη σωστή σπερματογένεση και την πτώση της ποιότητας του σπέρματος. Έτσι με την αύξηση της ηλικίας παρατηρείται μειωμένος ορχικός όγκος που αντικατοπτρίζει το μειωμένο αριθμό των κυττάρων Sertoli, πάχυνση της βασικής μεμβράνης των ορχικών σωληναρίων, ελάττωση του πληθυσμού των κυττάρων Leydig, μειωμένη λειτουργία των επικουρικών αδένων και ατροφία του προστάτη αλλά και ενδοκρινικές μεταβολές όπως διαταραχές στο ρυθμό λειτουργίας του υποθαλαμουποφυσιακού-ορχικού άξονα, μειωμένη FSH και τεστοστερόνη. Αποτελέσματα όλων των παραπάνω είναι η μείωση του όγκου του σπέρματος αλλά και ο επηρεασμός της μορφολογίας και της κινητικότητας των σπερματοζωαρίων. (16-18)

Ενδεικτικά αναφέρεται ότι σε ανασκόπηση της βιβλιογραφίας το 2001 η αύξηση της ηλικίας συνδέεται αρνητικά με τον σπερματικό όγκο, την κινητικότητα και την μορφολογία των σπερματοζωαρίων χωρίς όμως να υπάρχει κάποια συσχέτιση με την συγκέντρωση του

σπέρματος. Συγκεκριμένα μείωση του όγκου από 3%- 22%, της κινητικότητας από 3%- 37% και της φυσιολογικής μορφολογίας από 4%-18% είναι πιθανόν να παρατηρηθούν σε έναν άνδρα ηλικίας 50 ετών σε σχέση με έναν 30 ετών. (19)

### **3.2 ΕΝΔΟΓΕΝΗΣ ΚΑΙ ΕΠΟΧΙΑΚΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗ**

Μελετώντας τις παραμέτρους σπέρματος βρέθηκε ότι ενώ η αναπαραγωγή του ανθρώπου δεν διέπεται από εποχιακή διακύμανση, εντούτοις η σπερματογένεση δεν είναι ίδια σε όλη τη διάρκεια του χρόνου αλλά παρουσιάζει αυξομειώσεις. Στο γράφημα που δημοσιεύεται στο εγχειρίδιο του ΠΟΥ περιγράφονται οι μεταβολές στη συγκέντρωση σε 60 δείγματα σπέρματος ενός γόνιμου άνδρα σε διάστημα 120 ημερών που κατά πολλούς ερευνητές συνοδεύεται και από αντίστοιχο επηρεασμό της μορφολογίας και της κινητικότητας. (20) Επίσης, η ετήσια διακύμανση που παρατηρείται στις παραμέτρους του σπέρματος αντανακλά τις διαφορές στα επίπεδα της θερμοκρασίας και στη διάρκεια μεταξύ της ημέρας και νύχτας. Συγκεκριμένα τόσο ο συνολικός αριθμός, η συγκέντρωση και η κινητικότητα όσο και το ποσοστό των φυσιολογικών μορφών των σπερματοζωαρίων μειώνονται όταν η διάρκεια της ημέρας μεγαλώνει. Επιπρόσθετα οι χαμηλές θερμοκρασίες του χειμώνα ευνοούν τη σπερματογένεση ενώ οι υψηλές που σημειώνονται τους καλοκαιρινούς μήνες επηρεάζουν αρνητικά την ποιότητα του σπέρματος. (21)

Πολλές μελέτες όπως αυτές των Andolz P et al και Sobreiro BP et al, στην Ισπανία και Βραζιλία αντίστοιχα, έδειξαν ότι όλες οι παράμετροι του σπέρματος, ο όγκος, η συγκέντρωση, η κινητικότητα και η μορφολογία κυμαίνονταν σε υψηλότερα επίπεδα το Μάρτιο από ότι το Σεπτέμβριο. (22,23)

### **3.3 ΣΥΝΥΠΑΡΧΟΥΣΕΣ ΝΟΣΟΙ**

Οι καταστάσεις που μπορεί να επηρεάσουν την ποιότητα του σπέρματος περιλαμβάνουν ανατομικές ανωμαλίες του γεννητικού συστήματος που είτε κληρονομούνται όπως το σύνδρομο Klinefelter, η κυστική ίνωση, τα γονίδια AZF-DAZ, είτε είναι επίκτητες με χαρακτηριστικά παραδείγματα την κρυψορχία, την κισσοκήλη. Άλλες φορές πάλι υπάρχουν φλεγμονές από διάφορους ιούς και βακτήρια με συχνότερες αυτές που οφείλονται σε HPV (ιοί Papilloma), HSV (ερπητοιοί), HBV (ηπατίτιδα Β), Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum και Mycoplasma hominis. Οι προστατίτιδες και ειδικά οι χρόνιες έχουν τη δική τους συμμετοχή στον αρνητικό επηρεασμό των παραμέτρων του σπέρματος, ενώ μία ιδιαίτερη θέση κατέχει και ο καρκίνος των όρχεων, η νόσος Hodgkin και η λευχαιμία και αρκετές συστηματικές νόσοι όπως ο διαβήτης

### 3.4 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΟ ΤΡΟΠΟ ΖΩΗΣ

#### **Διατροφή**

Όλα τα τρόφιμα που είναι πλούσια σε αντιοξειδωτικές ουσίες φαίνεται ότι βελτιώνουν την κινητικότητα και τη μορφολογία του σπέρματος. (24)

Το ίδιο συμβαίνει και με τα τρόφιμα που σχετίζονται με τη μεσογειακή διατροφή φρούτα, λαχανικά, κοτόπουλο, ψάρι, δημητριακά. (25)

#### **Παχυσαρκία**

Παχύσαρκο σύμφωνα με τον παγκόσμιο οργανισμό υγείας ορίζεται το άτομο με δείκτη μάζας σώματος (BMI) >30. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει αρνητική συσχέτιση μεταξύ του BMI και της συγκέντρωσης, μορφολογίας και κινητικότητας του σπέρματος. Ο κύριος μηχανισμός φαίνεται να είναι η αύξηση των κυκλοφορούντων οιστρογόνων λόγω της αυξημένης μετατροπής της τεστοστερόνης σε αυτά. Ακολούθως μειώνεται η FSH και LH και διαταράσσεται η σπερματογένεση. (26,27)

#### **Αλκοόλ**

Από τη χρόνια και καθημερινή χρήση αλκοόλ φαίνεται ότι επηρεάζονται οι παράμετροι του σπέρματος κάτι που δεν ισχύει για την περιστασιακή κατανάλωσή του. Έχει αποδειχθεί ότι η αιθανόλη δρα άμεσα τοξικά στους όρχεις, προκαλεί ατροφία αυτών, αυξάνει το οξειδωτικό στρες με επηρεασμό των κυττάρων Leydig και Sertoli, αλλά διαταρράσει και τον άξονα υποθάλαμο υπόφυση και μειώνει τη libido.

Σε μια μεταανάλυση που περιελάμβανε 57 μελέτες βρέθηκε σημαντική σχέση μεταξύ της κατανάλωσης αλκοόλ και της μορφολογίας, του όγκου και της συγκέντρωσης του σπέρματος. Πολύ λίγοι άντρες από την κατηγορία των αλκοολικών είχαν φυσιολογική μορφολογία σπέρματος. Το 73% αυτών που κατανάλωναν μεγάλες ποσότητες αλκοόλ και το 63% αυτών με μέτριες ποσότητες ήταν τερατοζωοσπερμικοί. (29)

#### **Σωματική άσκηση**

Η ήπια άσκηση στους άνδρες δεν επηρεάζει ή ίσως δρα ευεργετικά στην ποιότητα του σπέρματος. Περιγράφηκε ότι αυτοί που ασκούσαν τουλάχιστο τρεις φορές την εβδομάδα από μία ώρα κάθε φορά είχαν καλύτερες όλες τις παραμέτρους του σπέρματος συγκρινόμενοι με αυτούς που ασκούσαν συχνότερα και πιο σκληρά. Ειδικά για τη μορφολογία αυτοί που ασκούσαν σε ελεγχόμενα, ήπια επίπεδα, είχαν σημαντικά καλύτερη μορφολογία (15.2%), όντας οι μοναδικοί που ήταν εντός των τιμών αναφοράς σύμφωνα με τα κριτήρια Kruger, σε σχέση με αυτούς που ασχολούνταν με κάποιο ανταγωνιστικό άθλημα (9.7%) ή, ακόμα περισσότερο, με αυτούς που ήταν αθλητές υψηλής κατηγορίας και

απαιτήσεων (4.7%). Και οι άλλες παράμετροι όμως, όπως η κινητικότητα και η συγκέντρωση, φαίνεται ότι επηρεάζονταν ανάλογα αλλά σε μικρότερο βαθμό. (30)

Δείγματα με μειωμένη κινητικότητα και κακή μορφολογία έχουν βρεθεί σε μαραθοδρομους κατά την πεντάμηνη διάρκεια προπόνησης αλλά και σε ποδηλάτες που ποδηλατούσαν περισσότερες από πέντε ώρες την εβδομάδα. (31,32)

### **Κινητά τηλέφωνα**

Τα κινητά τηλέφωνα φαίνεται ότι επηρεάζουν αρνητικά την ποιότητα του σπέρματος. Σε μία μεταανάλυση οι Adams et al συγκέντρωσαν τις μελέτες από το 2000 έως το 2012 και βρήκαν ότι η χρησιμοποίηση των κινητών τηλεφώνων έχει αρνητική επίπτωση στην κινητικότητα του σπέρματος και στη ζωτικότητα, ενώ παραμένουν αμφιβολίες σχετικά με τη συγκέντρωση. Τα κινητά τηλέφωνα εκπέμπουν χαμηλής συχνότητας ακτινοβολία, γνωστή ως ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία κατά τη διάρκεια της υπολογιστικής επεξεργασίας (EMR) και ένα δεύτερο είδος ακτινοβολίας την υπέρυθρη ακτινοβολία -κοινώς θερμότητα- που εκπέμπουν τα εσωτερικά μέρη που έχουν ζεσταθεί. Οι μη θερμικές επιδράσεις, που είναι η κύρια οδός δράσης των κινητών τηλεφώνων στην ποιότητα του σπέρματος, φαίνεται ότι αυξάνουν την παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου γεγονός που οδηγεί στη βλάβη του DNA. Η παραγωγή ελεύθερων ριζών αυξάνει και στα μιτοχόνδρια με αποτέλεσμα τον επηρεασμό της κινητικότητας και ζωτικότητας. Τα θερμικά αποτελέσματα οφείλονται στην αύξηση της θερμοκρασίας που προκαλείται γεγονός που εντείνεται από τη φύλαξη των κινητών στις τσέπες κοντά στα γεννητικά όργανα. Καταστρέφεται κατ' αυτόν τον τρόπο η σπερματογένεση. (33)

### **Κάπνισμα**

Μεταξύ των πολλαπλών κινδύνων που ενέχει για την υγεία του πληθυσμού το κάπνισμα είναι και η μείωση της γονιμότητας και ο επηρεασμός των παραμέτρων του σπέρματος. Οι άνδρες που καπνίζουν έχουν μειωμένη κινητικότητα των σπερματοζωαρίων και ελαττωμένο ποσοστό καλής μορφολογία. (34,35)

Οι Guar et al στη μελέτη τους αναφέρουν ότι μόνο το 6% των καπνιστών που συμμετείχαν στη μελέτη ήταν νορμοζωοσπερμικοί, ενώ το 39% των ελαφρά καπνιστών, το 19.2% του μετρίου βαθμού καπνιστών και κανένας από τους βαριά καπνιστές είχαν μόνο ασθενοζωοσπερμία. (36)

Οι περισσότεροι δηλαδή από αυτούς που κάπνιζαν μέτρια και όλοι όσοι κάπνιζαν πολύ είχαν ταυτόχρονα ασθενο, ολιγο, τερατοζωοσπερμία. Το κάπνισμα προκαλεί στον οργανισμό φλεγμονώδη αντίδραση και οξειδωτικό στρες αλλά και μεταβολές στα επίπεδα ορμονών, αύξηση της FSH και LH και μείωση της τεστοστερόνης. (34)

### **Λήψη φαρμάκων**

Πολλές κατηγορίες φαρμακευτικών ουσιών έχει αναφερθεί ότι επηρεάζουν την ποιότητα του σπέρματος. Από τις συχνά χρησιμοποιούμενες μπορούμε να αναφέρουμε τη χρήση αντικαταθλιπτικών και αντιεπιληπτικών που έχουν συσχετισθεί με μείωση της κινητικότητας, της συγκέντρωσης και της σωστής μορφολογίας ενώ η κυκλοσπορίνη βρέθηκε επίσης ότι επηρεάζει αρνητικά τη μορφολογία του σπέρματος. Στην κατηγορία των ναρκωτικών ενδεικτικά τα κανναβινοειδή ελαττώνουν την παραγωγή τεστοστερόνης από τα κύτταρα Leydig, αλλάζουν τους ρυθμούς απόπτωσης των Sertoli, μειώνουν τη σπερματογένεση, την κινητικότητα, την ενεργοποίηση και την ακροσωμική αντίδραση των σπερματοζωαρίων ενώ τα οπιοειδή, ηρωίνη και μεθαδόνη, μειώνουν την κινητικότητα. (37,38)

Επίσης, τα αναβολικά επηρεάζουν σημαντικά όλες τις παραμέτρους του σπέρματος. (39)

### **3.5 ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ**

Λόγω της βιομηχανοποίησης αλλά και της αλόγιστης χρήσης διάφορες τοξικές ουσίες απελευθερώνονται στο περιβάλλον, στον αέρα, στο έδαφος και στο νερό από όπου και εισέρχονται στον ανθρώπινο οργανισμό με την αναπνοή, τη δερματική επαφή, τα μολυσμένα τρόφιμα και το πόσιμο νερό. Η όλο και φθίνουσα ποιότητα του ανδρικού σπέρματος θέτει υποψίες για τον επηρεασμό του από τους τοξικούς αυτούς περιβαλλοντικούς παράγοντες γεγονός που είναι αντικείμενο έρευνας και τις πιο πολλές φορές αποδεικνύεται από πολλές εργασίες. Οι φθαλικές ενώσεις, τα φυτοφάρμακα, οι ατμοσφαιρικοί ρύποι, οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες, τα προϊόντα απολύμανσης νερού, τα βαρέα μέταλλα, οι διοξίνες, η δισφαινόλη είναι μόνο μερικές από τις ουσίες που βρίσκονται γύρω μας και ενοχοποιούνται για την αρνητική τους επίδραση στις παραμέτρους σπέρματος. (40)

### **3.6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**

Κατά τη διάρκεια όλων των σταδίων της ζωής του ανθρώπου ξεκινώντας από την εμβρυική ζωή, νεογνική και παιδική ηλικία καθώς και μετέπειτα στην ενήλικη ζωή, πολλοί παράγοντες ενδογενείς ή εξωγενείς, κληρονομικοί ή επίκτητοι που είτε έχουν άμεση σχέση με τον τρόπο ζωής του σύγχρονου ανθρώπου και τις ασχολίες του, είτε με και το περιβάλλον που ζει και εργάζεται, δυνητικά μπορεί να επηρεάσουν τη σπερματογένεση και τις παραμέτρους του σπέρματος. Δηλαδή σε όλη την πορεία της δημιουργίας των σπερματοζωαρίων από τα σπερματογόνια έως τα ώριμα σπερματοζωάρια αυτοί οι παράγοντες μπορεί να επιδράσουν σε διάφορο χρόνο και διάφορες ανατομικές περιοχές του ανδρικού γεννητικού συστήματος

διαταράσσοντας τις ισορροπίες και παρεμποδίζοντας τη σωστή δομική και λειτουργική ανάπτυξη των σπερματοζωαρίων και κατ' επέκταση την ποιότητα του σπέρματος.

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΣΤΗ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΚΙΝΗΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ**

### **5.1 ΔΙΣΦΑΙΝΟΛΗ Α**

Η Δισφαινόλη Α (BPA) είναι μία οργανική χημική ένωση ευρέως διαδεδομένη, η οποία κυρίως χρησιμοποιείται ως πρόσθετο με άλλα χημικά για την παρασκευή πολυκαρβονικών πλαστικών (PC). Πλαστικά που περιέχουν BPA παρουσιάζουν εξαιρετική ανθεκτικότητα στη θερμότητα είναι άκαμπτα, ελαφριά και διάφανα. Το BPA χρησιμοποιείται σε πολλές συσκευασίες τροφίμων και αναψυκτικών, σε πλαστικά μπουκάλια, παλιότερα και σε αυτά της βρεφικής διατροφής, ως επίστρωση σε ορισμένες μεταλλικές κονσέρβες, σε οικιακά ηλεκτρικά σκεύη, σε παιδικά παιχνίδια, σε μερικές οδοντικές προστατευτικές καλύψεις αλλά και σε θερμογραφικά χαρτιά και φακούς επαφής. (41) Στις Ηνωμένες πολιτείες πάνω από το 90% των συμμετεχόντων στη National Health and Nutritional Examination Survey (NHANES) κατά τα έτη 2003-2004 και 2011-2012 είχαν ανιχνεύσιμα επίπεδα BPA στα δείγματα ούρων που εξετάστηκαν(42,43). Επίσης η ουσία αυτή ανιχνεύθηκε και σε άλλα υγρά του σώματος όπως στο μητρικό γάλα και στο αμνιακό υγρό. (44)

Λόγω λουπόν της ευρείας βιομηχανικής χρήσης του BPA, υπάρχουν πολύ τρόποι έκθεσης του ανθρώπινου οργανισμού σε αυτό μέσω του αέρα, του δέρματος, των τροφών αλλά και του πόσιμου νερού. Για παράδειγμα, μέσω χημικών διαδικασιών υδρόλυσης, το BPA δύναται να μεταναστεύει από την εσωτερική στρώση της κονσέρβας που το εμπεριέχει προς το τρόφιμο, σε επίπεδα ανίχνευσης που κυμαίνονται μεταξύ των 5 και 38 ppm ενώ σε χαμηλότερα επίπεδα, 0.5-5 ppm, έχει επίσης εντοπιστεί στο πόσιμο νερό, προερχόμενο από πολυμερή υλικά που χρησιμοποιούνται στις διαδικασίες αποθήκευσης και διανομής του. Πλέον παγκοσμίως έχει τεθεί ως ανεκτή ημερήσια πρόσληψη (tolerable daily intake – TDI) για το BPA τα 0.05 mg/kg σωματικού βάρους ανά ημέρα. Ιδιαίτερη προσοχή έχει δοθεί στα βρέφη και παιδιά που ανήκουν στις ομάδες με τις μεγαλύτερες πιθανότητες διατροφικής έκθεσης σε BPA σε σχέση με το σωματικό βάρος.

Για το BPA υπάρχουν πειραματικές μελέτες in vitro που μπορούν να γίνουν χρησιμοποιώντας ποικίλες συγκεντρώσεις έκθεσης στην ουσία, αλλά απαραίτητο είναι να γίνονται και μελέτες in vivo οι οποίες θα διερευνούν τη δράση στους ζωντανούς οργανισμούς χρησιμοποιώντας και χαμηλές συγκεντρώσεις έκθεσης low dose παρόμοιες συνήθως με αυτές που

φυσιολογικά υπάρχουν. Ως αποτέλεσμα χαμηλής δόσης (low dose effect) ορίζονται αυτές οι παρενέργειες που παρατηρούνται σε συγκεντρώσεις χαμηλότερες από αυτές που χρησιμοποιούνται στις τοξικολογικές μελέτες. Για το BPA χαμηλές δόσεις ορίζονται οι μικρότερες από 50 µg/kg/ημέρα.(45)

Αρκετά λοιπόν δεδομένα και συμπεράσματα έχουμε από πειράματα σε τρωκτικά. Έκθεση σε χαμηλή δόση BPA συνδυάστηκε με χαμηλή κινητικότητα και μειωμένο αριθμό σπερματοζωαρίων σε ποντίκια και αρουραίους, όπως επίσης και αυξημένο κατακερματισμό DNA σπέρματος. Επιπροσθέτως, βρέθηκαν χαμηλά επίπεδα τεστοστερόνης. (46-51)

Όμως υπάρχουν και κάποιες άλλες μελέτες που συμπεραίνουν ότι το BPA δε βλάπτει την ποιότητα του σπέρματος.(52-55)

Όσον αφορά την αρνητική επίδραση του BPA στις παραμέτρους και στην ποιότητα του σπέρματος στον άνθρωπο αλλά και γενικότερα στην αναπαραγωγική ικανότητά του και γονιμότητα, καθώς και στις ορμόνες αναπαραγωγής υπάρχουν συμπεράσματα που άλλες φορές συμφωνούν κατά ένα μέρος και άλλες όχι. Με τα σημερινά δεδομένα δεν υπάρχουν επαρκείς ενδείξεις για να μας οδηγήσουν στο συμπέρασμα ότι η έκθεση στο BPA σε μέτρια έως χαμηλά επίπεδα, η οποία προσδιορίζεται με τη μέτρηση της ποσότητας BPA στα ούρα, μπορεί δεδομένα να επηρεάσει αρνητικά τις παραμέτρους του σπέρματος και την ανδρική γονιμότητα. Περαιτέρω έρευνες απαιτούνται για να διαλευκανθεί ο ρόλος του BPA σε αυτό το θέμα.

Σε μια προοπτική μελέτη οι Li et al διερεύνησαν τη σχέση των συγκεντρώσεων BPA στα ούρα και των παραμέτρων του σπέρματος σε 218 εργάτες εργοστασίων από τέσσερις περιοχές της Κίνας. Βρέθηκε αρνητική δόσοεξαρτώμενη συσχέτιση μεταξύ των συγκεντρώσεων BPA στα ούρα και του αριθμού των σπερματοζωαρίων ανά ml, του συνολικού αριθμού, της κινητικότητας και της ζωτικότητας η οποία ήταν μεγαλύτερη όταν απομονώθηκαν και μελετήθηκαν σε χωριστή ομάδα οι εργάτες που είχαν και επαγγελματική έκθεση στο BPA. Στην άλλη ομάδα, με άτομα που δεν εκτίθονταν στη δουλειά τους και είχαν μικρότερη ποσότητα BPA στα ούρα η μόνη παράμετρος στην οποία υπήρχε σημαντική ελάττωση ήταν η συγκέντρωση του σπέρματος. Στη μελέτη αυτή βρέθηκε ότι οι άνδρες που είχαν ανιχνεύσιμα επίπεδα BPA στα ούρα είχαν δύο φορές μεγαλύτερο κίνδυνο να έχουν μειωμένη κινητικότητα στο σπέρμα (<40%), σε σχέση με τους άντρες που δεν είχαν ανιχνεύσιμα επίπεδα, ενώ ο κίνδυνος για μειωμένη συγκέντρωση και ζωτικότητα ήταν ήταν τρεις και τέσσερις φορές μεγαλύτερος αντίστοιχα. Όσον αφορά όμως τη μορφολογία των σπερματοζωαρίων και τον όγκο εκσπερμάτισης δε βρέθηκε καμία συσχέτιση με την έκθεση στο BPA. (56)



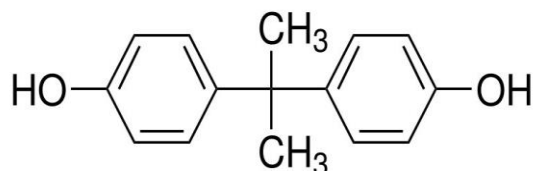
Το συμπέρασμα μιας μελέτης επιπολασμού, που αφορούσε 308 Δανούς άντρες που εκτελούσαν τη στρατιωτική τους θητεία, ήταν ότι ενώ η κινητικότητα των σπερματοζωαρίων συσχετίστηκε αντίστροφα με την ποσότητα BPA στα ούρα εντούτοις καμία συσχέτιση δεν υπήρξε με τις άλλες παραμέτρους του σπέρματος (57). Ακολούθως οι Meeker et al μελέτησαν 190 άνδρες από υπογόνιμα ζευγάρια και βρήκαν και αυτοί ότι αρνητική συσχέτιση μεταξύ της ποσότητας BPA στα ούρα και όχι μόνο της κινητικότητας αλλά και της μορφολογίας, της συγκέντρωσης και του αυξημένου κατακερματισμού DNA. (58)

Σε δυο άλλες μελέτες ανδρών από υπογόνιμα ζευγάρια που επισκέπτονταν γυναικολογικές κλινικές προκειμένου να βρουν το αίτιο της υπογονιμότητας η ποσότητα BPA στα ούρα, αν και παραπλήσια με αυτή της μελέτης των Meeker et al δε συσχετίστηκε με καμία από τις παραμέτρους του σπέρματος συμπεριλαμβανομένων της μορφολογίας και της κινητικότητας. Αξιοσημείωτο είναι ότι στη δεύτερη μελέτη βρέθηκε μειωμένος κατακερματισμός σπέρματος σε αυξημένες συγκεντρώσεις του BPA. (59-60)

Συνοψίζοντας θα λέγαμε ότι ενώ η βιβλιογραφία είναι εκτενής και υπάρχουν πολλά δεδομένα, που στηρίζονται και σε μελέτες *in vitro*, που δεν αφήνουν αμφιβολία ότι το BPA ειδικά σε μεγάλες ποσότητες ασκεί βλαπτική δράση στην κινητικότητα, μορφολογία και γενικότερα στις παραμέτρους του σπέρματος, εντούτοις οι μελέτες *in vivo* και ειδικά αυτές που αφορούν τον άνθρωπο είναι λίγες, οι περισσότερες επιπολασμού, με μεγάλη ετερογένεια στα συμπεράσματά τους. Όσον αφορά την κινητικότητα στις περισσότερες έχει βρεθεί αρνητική συσχέτιση και σε κάποιες λιγότερες καμία, ενώ αντίστοιχα για τη μορφολογία στις πιο πολλές δεν έχει βρεθεί σημαντική συσχέτιση.

Γενικά λοιπόν υπάρχει μια ασυμφωνία στις μελέτες που υπάρχουν όσον αφορά το ζήτημα του επηρεασμού των παραμέτρων του σπέρματος και ειδικά της κινητικότητας και της μορφολογίας από το βαθμό της συγκέντρωσης του BPA στα ούρα η οποία αντιστοιχεί στη συγκέντρωση του BPA του περιβάλλοντος. Σε αυτή την ετερογένεια σίγουρα συμβάλουν και κάποιες μεθοδολογικές διαφορές μεταξύ των μελετών. Εκτός από τα γνωστά προβλήματα που αφορούν τη σωστή και αντιπροσωπευτική συλλογή των δειγμάτων σπέρματος καθώς και την αντικειμενική και, σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες κατά WHO εκτίμηση των παραμέτρων, ειδικά της μορφολογίας, γιατί αυτή όπως είναι γνωστό ενέχει τις μεγαλύτερες δυσκολίες στον προσδιορισμό της, υπάρχουν και ιδιαιτερότητες όσον αφορά τη συλλογή των ασθενών και τη φαρμακοκινητική του BPA. Κάθε μελέτη αναφέρεται σε διαφορετικό δείγμα πληθυσμού ανδρών άλλοτε σε γόνιμους που μπορεί δυνητικά να είναι λιγότερο ευαίσθητοι στις επιδράσεις του BPA και άλλες φορές σε υπογόνιμους. Κατά δεύτερο λόγο οι συγκεντρώσεις του BPA στα ούρα ποικίλουν σε κάθε μελέτη αν και έχουν βρεθεί αντιφατικά

αποτελέσματα ακόμα και σε μελέτες που υπάρχει έκθεση σε ίδιες συγκεντρώσεις. Επίσης πολλές μελέτες χρησιμοποιούν μόνο ένα δείγμα ούρων ως μέτρηση της έκθεσης στο BPA γεγονός μη δόκιμο αφού η τοξική αυτή ουσία έχει μικρό χρόνο ημίσειας ζωής ή ο ασθενής δε βρίσκεται σε συνεχή έκθεση σε αυτή και έτσι με το ένα μόνο δείγμα δημιουργούνται ουσιαστικά σφάλματα μετρήσεων και άμβλυση των συσχετισμών.



Εικ. 3 Δισφαινόλη Α

## 5.2 ΦΘΑΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

Οι φθαλικές ενώσεις, ή φθαλικοί εστέρες, είναι μία κατηγορία ευρέως διαδεδομένων χημικών ενώσεων που έχουν παραχθεί από τον άνθρωπο και χρησιμοποιούνται κυρίως ως πλαστικοποιητές (ουσίες που προστίθενται στα πλαστικά για την αύξηση της ευλυγισίας τους). Χρησιμοποιούνται πρωτίστως για την μετατροπή του πολυχλωριούχου βινυλίου (PVC) από σκληρό σε ευλύγιστο πλαστικό. Οι φθαλικοί εστέρες είναι δι-εστέρες ή αλλυλικοί εστέρες του 1,2-βενζοδικαρβοξυλικού οξέος (φθαλικό οξύ). Όταν προστίθενται σε πλαστικά, οι φθαλικές ενώσεις επιτρέπουν στα μακρομόρια πολυβινυλίου να γλιστρούν μεταξύ τους. Εμφανίζουν μικρή διαλυτότητα στο νερό, υψηλή διαλυτότητα σε έλαια και χαμηλή πτητικότητα. Είναι άχρωμα, άοσμα υγρά που παράγονται από την αντίδραση ενός φθαλικού ανυδρίτη με μία κατάλληλη αλκοόλη (με συνήθως 6 ως 13 άνθρακες).

Οι φθαλικές ενώσεις παράχθηκαν για πρώτη φορά κατά την δεκαετία '20, και παρασκευάζονται σε μεγάλη κλίμακα από την δεκαετία του '50, μετά την εισαγωγή του PVC. Οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες είναι οι di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP), diisodecyl phthalate (DIDP) και diisononyl phthalate (DINP). Ο DEHP είναι ο κύριος πλαστικοποιητής που χρησιμοποιείται στο PVC, εξαιτίας του χαμηλού κόστους του. Ταξινομούνται σε δύο ομάδες βάσει του αριθμού των ατόμων άνθρακα και των ομάδων υδροξυλίων που περιέχουν. Τα χαμηλού μοριακού βάρους (LMW με 3-6 άτομα άνθρακα όπως DEHP, DBP, BBzP) και τα υψηλού μοριακού βάρους (HMW με 7-13 άτομα άνθρακα όπως DIDP, DINP). Τα χαμηλού μοριακού βάρους χρησιμοποιούνται ευρέως σε ιατρικά προθέματα και εξοπλισμό όπως επίσης και σε πλαστικά προϊόντα ευρείας χρήσεως σχετικά με το πολυβινυλοχλωρίδιο (PVC),

ενώ έχουν χαρακτηρισθεί ως CMR (carcinogenic, mutagenic and toxic to reproduction)(61). Τα υψηλού μοριακού βάρους είναι πιο ανθεκτικά και σκληρά χρησιμοποιούνται ως συστατικά σε επιστρώσεις δαπέδων, ταπετσαρίες, δε θεωρούνται CMR και προωθούνται στην αγορά ως πιο ασφαλή. Τις φθαλικές ενώσεις γενικά τις συναντούμε σε βερνίκια νυχιών, δολώματα αλιείας, κόλλες, λούστρα, αρώματα και εντομοαπωθητικά, χρωστικές ουσίες βαφών, παιχνίδια, ηλεκτρικά καλώδια, ιατροτεχνολογικά προϊόντα και εξαρτήματα όπως αναπνευστικούς σωλήνες ή ενδοφλέβιους καθετήρες αλλά και σε σεξουαλικά βοηθήματα που φτιάχνονται από το επονομαζόμενο "jelly rubber".(62)

Επειδή οι φθαλικές ενώσεις δε συνδέονται χημικά με τα προϊόντα στα οποία βρίσκονται γι' αυτό απελευθερώνονται συνεχώς στο περιβάλλον και οι άνθρωποι εκτίθενται σε αυτές με την κατάποση, την εισπνοή και τη διαδερμική απορρόφηση, ενώ οι μεταβολίτες τους ακολούθως απεκκρίνονται με τα ούρα. Οι μονοεστερικοί και οξειδωτικοί τους μεταβολίτες χρησιμεύουν ως πολύ καλοί βιοδείκτες της έκθεσης στις ενώσεις αυτές αποδεικνύοντας όμως την πολύ πρόσφατη έκθεση. Παρά το μικρό χρόνο ημίσειας ζωής συστατικά και μεταβολίτες αυτών των ενώσεων έχουν εντοπισθεί στα ούρα σε μεγαλύτερο ποσοστό του 95% των ατόμων που έχουν εξετασθεί. (63)

Η έκθεση στις φθαλικές ενώσεις έχει αναφερθεί ότι είναι το αίτιο στις 40-69% των περιπτώσεων ανδρικής υπογονιμότητας. (64)

Αρκετές μελέτες έχουν ως θέμα τους την τοξικότητα των φθαλικών εστέρων. Πιο κάτω αναφέρονται αυτές που εξετάζουν την επίδραση στις παραμέτρους του σπέρματος. Οι Duty et al. συνέκριναν τα επίπεδα οκτώ μεταβολιτών των φθαλικών ενώσεων στα ούρα μεταξύ ανδρών (από 168 υπογόνιμα ζευγάρια) με φυσιολογικές και παθολογικές παραμέτρους σπέρματος. Παρατηρήθηκε αντίστροφη σχέση μεταξύ της ποσότητας δύο φθαλικών μεταβολιτών στα ούρα (monobutyl MBP και monobenzyl phthalate MbzP) και της κινητικότητας καθώς και της συγκέντρωσης των δειγμάτων σπέρματος. (65)

Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώνονται από μια παρόμοιου σχεδιασμού μελέτη από τους Hauser et al. που περιλαμβάνει 463 υπογόνιμους άνδρες και από μια μικρότερη που αναφέρεται σε 45 άνδρες αντίστοιχα. (66-67)

Στην Ινδία σε δύο ανάλογες μελέτες βρέθηκε αρνητική συσχέτιση στην πρώτη μεταξύ των επιπέδων του μεταβολίτη DEHP στο σπέρμα από τη μια μεριά και της κινητικότητας, συγκέντρωσης και σωστής μορφολογίας των σπερματοζωαρίων από την άλλη, ενώ στη δεύτερη που ήταν μεταγενέστερη αντίστοιχη σχέση μεταξύ των DEHP, DBP, DEP και της κινητικότητας. (68-69)

Οι πιο πάνω μελέτες αλλά και κάποιες άλλες (70) που έχουν ως κοινό ότι αναφέρονται σε υπογόνιμους άνδρες υποστηρίζουν ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των αυξημένων επιπέδων των μεταβολιτών των φθαλικών ενώσεων στα ούρα και της κακής ποιότητας σπέρματος, κυρίως της μειωμένης κινητικότητας.

Σε μελέτες όμως που αναφέρονται σε άτομα του γενικού πληθυσμού ή γόνιμους άνδρες υπάρχει μια ετερογένεια συμπερασμάτων.

Η πολυκεντρική μελέτη επιπολασμού των Thurston et al διερεύνησε την επίδραση των φθαλικών ενώσεων στις παραμέτρους του σπέρματος στις Ηνωμένες πολιτείες σε γόνιμους άνδρες συμπεριλαμβάνοντας 420 συζύγους εγκύων γυναικών. Μετρήθηκαν εννέα φθαλικοί μεταβολίτες στα ούρα που συλλέχθηκαν την ίδια στιγμή με το δείγμα σπέρματος. Χρησιμοποιήθηκαν πολλά στατιστικά μοντέλα και διάφοροι συσχετισμοί λαβαίνοντας υπ' όψιν πολλές παραμέτρους και βρέθηκε μόνο μια αντίστροφη σχέση μεταξύ του μεταβολίτη monobenzyl phthalate MBzP και της κινητικότητας που και αυτή όμως σύμφωνα με τους συγγραφείς μπορεί να θεωρηθεί τυχαία.

Οι Jonsson et al προσδιόρισαν σε 234 Σουηδούς άνδρες πολλές παραμέτρους εκτίμησης του σπέρματος και μέτρησαν ταυτόχρονα και τους φθαλικούς μεταβολίτες στα ούρα. Βρήκαν ότι στα άτομα με υψηλά επίπεδα MEP υπήρχε μειωμένη κινητικότητα στο σπέρμα (71) Το ίδιο αλλά και την επηρεασμένη μορφολογία επιβεβαιώνει και η μελέτη των Bloom et al (72).

Σε άλλες πάλι μελέτες που αναφέρονταν σε άτομα του γενικού πληθυσμού (73) ή γόνιμους άνδρες (74-75) βρέθηκε είτε μικρή είτε καμία συσχέτιση με τις παραμέτρους του σπέρματος συμπεριλαμβανομένης της μορφολογίας και της κινητικότητας.

Τέλος στη μεταανάλυση δεκατεσσάρων μελετών οι Cai et al (2015) εκτός των άλλων περιγράφουν επίσης το διαφορετικό βαθμό επίδρασης του κάθε φθαλικού μεταβολίτη στην ποιότητα του σπέρματος όπως ότι καμία συσχέτιση δε βρέθηκε μεταξύ του MMP και της κινητικότητας και μορφολογίας ενώ βρέθηκε θετική συσχέτιση με τους MBP, MBzP ή MEHP. (76)

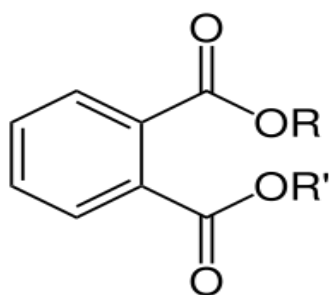
Τα ποικίλα συμπεράσματα που ενάγονται από όλες τις παραπάνω μελέτες οφείλονται καταρχάς στις δυσκολίες που πάντα υπάρχουν στη συλλογή και εκτίμηση των δειγμάτων σπέρματος. Επίσης οι μελέτες συνήθως αναφέρονται σε μετρήσεις διαφορετικών μεταβολιτών κάθε φορά, ενώ χρησιμοποιούν ετερογενείς πληθυσμούς, γόνιμους, υπογόνιμους άνδρες ή άτομα του γενικού πληθυσμού. Η λήψη ενός δείγματος ούρων φαίνεται ότι είναι αναξιόπιστη και μη αντιπροσωπευτική ειδικά για τον μεταβολίτη DEHP και γ' αυτό απαιτούνται μετρήσεις περισσότερες του ενός δείγματος ούρων. (77)

Ο άνθρωπος γρήγορα μεταβολίζει τους φθαλικούς διεστέρες στους αντίστοιχους μονοεστέρες. Ο χρόνος ημιζωής είναι μια ημέρα ή και λιγότερο οπότε η ανίχνευσή τους στο σπέρμα δείχνει πρόσφατη έκθεση. Παραταύτα όμως μία μόνιμη σταθερή συγκέντρωση μπορεί να επιτευχθεί μετά από χρόνια έκθεση σε χαμηλά επίπεδα όπως από τη λήψη τροφών και τη χρήση διαφόρων προϊόντων.

Η ποιότητα του σπέρματος τη δεδομένη χρονική στιγμή που εκτιμάται μπορεί να αντανakλά το αποτέλεσμα της έκθεσης του οργανισμού σε τοξικούς παράγοντες δεκαετίες πριν, ακόμα και από του πρώτους μήνες της εμβρυικής ζωής. Η έκθεση στις φθαλικές ενώσεις στην παιδική και εφηβική ζωή, περιόδοι όπου το αναπαραγωγικό σύστημα είναι ακόμα ευαίσθητο, είναι υπεύθυνη για αλλοιώσεις στην ποιότητα του σπέρματος αργότερα. Οι προοπτικές μελέτες θα βοηθούσαν περισσότερο στη σωστή εξαγωγή συμπερασμάτων.

Επιπρόσθετα οι εργασίες αναφέρονται σε διαφορετικά είδη εστέρων ενώ κάποια δεν έχουν διερευνηθεί καθόλου. Δεν υπάρχουν επίσης δεδομένα αναφορικά με τη συνεργική δράση των εν λόγω εστέρων.

Αυτή η μεγάλη ετερογένεια απόψεων στις διάφορες μελέτες υποδηλώνει ότι η επίδραση των φθαλικών ενώσεων στην κινητικότητα, στη μορφολογία αλλά και στις άλλες κλασσικές παραμέτρους του σπέρματος είναι γενικά μικρή κατά την ενήλικη ζωή, αλλά σαφώς είναι μεγαλύτερη σε άνδρες με υπογονιμότητα. Εντούτοις οι ενώσεις αυτές αποδεικνύεται ότι δύνανται να αλλάξουν άλλους παράγοντες που έχουν σχέση με την ποιότητα του σπέρματος όπως την έκφραση γονιδίων ή να αυξήσουν τον κατακερματισμό του DNA.



Εικ. 4 φθαλικοί εστέρες

### 5.3 ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΑ

Τα φυτοφάρμακα είναι χημικές ουσίες που χρησιμοποιούνται για την καταπολέμηση των εχθρών των φυτών με σκοπό την αποδοτικότερη καλλιέργεια. Ανάλογα με τη χημική τους δομή διακρίνονται σε οργανοφωσφορικά, οργανοχλωριωμένα, πυρεθρίνες, καρβαμιδικά, αζωτούχα, τριαζίνες, τριαζόλες κ.λπ. ενώ ανάλογα με τη χρήση τους στα ζιζανιοκτόνα (που καταστρέφουν τα αγριόχορτα που αναπτύσσονται στις καλλιέργειες), τα παρασιτοκτόνα που καταστρέφουν τα ζωικά ή φυτικά παράσιτα (που ζουν στα φυτά και τρέφονται εις βάρος τους) και τα εντομοκτόνα (που σκοτώνουν τα έντομα, που καταστρέφουν τα μέρη των φυτών), χωρίς να βλάπτουν τα ίδια τα φυτά. Τα τελευταία είναι τα συχνότερα χρησιμοποιούμενα και περιλαμβάνουν τις οργανοφωσφορικές και τις καρβαμιδικές ενώσεις που είναι πολύ τοξικές για τον άνθρωπο αλλά και τα λιγότερο τοξικά πυρεθροειδή. Οι οργανοφωσφορικές ενώσεις περιέχουν παράγωγα άνθρακα και φωσφορικού οξέος. Απορροφούνται διαμέσου του δέρματος, των πνευμόνων και του γαστρεντερικού συστήματος. Δεσμεύουν το ένζυμο ακετυλοχολινεστεράση (Ache) που βρίσκεται στο νευρικό σύστημα, στις νευρομυϊκές συνάψεις και στα ερυθροκύτταρα καθιστώντας αυτό το ένζυμο ανενεργό για την υδρόλυση της ακετυλοχολίνης σε χολίνη και οξικό άλας, με αποτέλεσμα η αυξημένη ποσότητά της να δημιουργεί υπερδιέγερση των υποδοχέων της. Μετά από κάποια περίοδο το σύμπλοκο AChE οργανοφωσφορικών υπόκειται σε κάποια μετατροπή, γνωστή ως γήρανση, η οποία καθιστά το ένζυμο μη αντιστρεπτά ανθιστάμενο στην επανεργοποίησή του από το αντίδοτο οξίμη (πραλιδοξίμη). Οι καρβαμιδικές ενώσεις απορροφώνται διαμέσου όλων των οδών έκθεσης σε αυτές αντίθετα όμως με τα οργανοφωσφορικά προκαλούν παροδική αναστολή της χολινεστεράσης και έτσι η τοξικότητά τους είναι μικρότερης διάρκειας από ισοδύμανη δόση οργανοφωσφορικών. Στον ανθρώπινο οργανισμό εισέρχονται με την αναπνοή, την κατάποση αλλά κυρίως διαδερμικά. Οι Γ. Ανυφαντής και συνεργάτες στο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο της Λάρισας πρόσφατα (2017) μελέτησαν ποια είναι η επίδραση της άμεσης *in vitro* έκθεσης του σπέρματος σε διάλυμα που περιέχει το φυτοφάρμακο Round up, σε συγκέντρωση 1mg/l που ισοδυναμεί σε συγκέντρωση glyphosate (γλυφοσάτη-κύριο συστατικό του round up) 0,36 mg/l, στην κινητικότητα των σπερματοζωαρίων και στην ακεραιότητα των μιτοχονδρίων τους. Συλλέχθηκαν δείγματα σπέρματος από 66 υγιείς άνδρες μέρος των οποίων επωάστηκε με το προαναφερθέν φυτοφάρμακο για 1 και 3 ώρες. Βρέθηκε ότι η μέση προωθητική κινητικότητα στα δείγματα που επωάστηκαν ήταν την 1<sup>η</sup> ώρα κατά 11.16% χαμηλότερη από αυτή της εναπομείνουσας ποσότητας των ίδιων δειγμάτων που δεν επωάστηκε. Το αντίστοιχο ποσοστό για την 3<sup>η</sup> ώρα ήταν μικρότερο, δηλαδή 6,33%. Η χρωστική που

χρησιμοποιήθηκε για τα μιτοχόνδρια είχε την ιδιότητα να βάφει αυτά των ζωντανών κυττάρων. Αφού λοιπόν η πυκνότητά και η συγκέντρωση της χρωστικής στα μιτοχόνδρια θεωρείται ότι σχετίζεται με τη μορφολογική και λειτουργική ακεραιότητά τους και ταυτόχρονα η έκθεση των σπερματοζωαρίων στο Round up ελάττωσε την ενσωμάτωση της χρωστικής σε αυτά, αυτή η εργασία αποδεικνύει ότι η μείωση της προωθητικής κινητικότητας πιθανώς να σχετίζεται με δυσλειτουργία των μιτοχονδρίων. (78)

Σε μετεγενέστερη *in vitro* μελέτη τους οι Γ. Ανυφαντής και συνεργάτες απέδειξαν ότι η γλυφοσάτη από μόνη της ως αυτούσια ουσία, σε συγκέντρωση 0.36 mg/l, έχει τοξικές επιδράσεις στην κινητικότητα κατά την 1<sup>η</sup> ώρα της επώασης αλλά δεν διαταράσσει τη δομή του DNA. (79)

Και οι δύο πιο πάνω πρωτότυπες μελέτες δείχνουν την τοξική επίδραση των συγκεκριμένων φυτοφαρμάκων στη κινητικότητα των σπερματοζωαρίων σε μικρές σχετικά δόσεις έκθεσης, αλλά επειδή είναι *in vitro* δε μπορούν να λάβουν υπ' όψιν τις βιομετατροπές που τυχόν γίνονται μέσα στον οργανισμό, ενώ πρέπει να σημειωθεί επίσης ότι η χορήγηση της τοξικής ουσίας είναι απότομη και οξεία.

Σε μια μεταανάλυση των Martenies et al συμπεριελήφθησαν 17 μελέτες που έλαβαν χώρα από τον Ιανουάριο του 2007 έως τον Αύγουστο του 2012 (80) Στις 15 από αυτές βρέθηκαν σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ της έκθεσης στα φυτοφάρμακα και των παραμέτρων του σπέρματος. Οι δύο επίσης από αυτές διερεύνησαν και κατέληξαν ότι κάποιοι πολυμορφισμοί είναι δυνατό να έχουν σημαντικό ρόλο στη διαμόρφωση του βαθμού αυτών των συσχετισμών. Το πιο συχνό εύρημα της έκθεσης στα διάφορα φυτοφάρμακα στις μελέτες αυτές ήταν η μείωση της συγκέντρωσης των σπερματοζωαρίων και ακολουθούσε η μείωση της κινητικότητας. Όσον αφορά τον επηρεασμό της μορφολογίας υποστηρίχθηκε μόνο από δύο μελέτες, μία με έκθεση στο DDT και μία στα οργανοφωσφορικά. Πολύ λίγες μελέτες βασίστηκαν μόνο στο ιστορικό της έκθεσης των ατόμων στα φυτοφάρμακα ενώ οι περισσότερες μετρούσαν τους μεταβολίτες στον ορό του αίματος και στο σπερματικό υγρό. Επειδή κάθε μεταβολίτης δεν είναι ειδικός για ένα συγκεκριμένο φυτοφάρμακο η μέτρησή του αντιπροσωπεύει μία ομάδα φυτοφαρμάκων και όχι απαραίτητα ένα. Εξαιρέση αποτελούν τα οργανοχλωρικά και η abamectin. Πολλά από τα φυτοφάρμακα μετατρέπονται στους μεταβολίτες τους στο περιβάλλον και άλλα μέσα στο σώμα των ζωντανών οργανισμών. Επειδή η προέλευση των μεταβολιτών μπορεί να εξακριβωθεί μόνο με πολύ ειδικούς τρόπους δε μπορούμε να είμαστε σίγουροι για την πραγματική επίδραση της αρχικής δραστικής ουσίας στον ανθρώπινο οργανισμό. Τρεις μελέτες που μέτρησαν μεταβολίτες των

πυρεθροειδών βρήκαν συσχέτιση της έκθεσης σε αυτά με μειωμένη συγκέντρωση του σπέρματος χωρίς να επηρεάζεται η μορφολογία και η κινητικότητα. (81-83)

Για τα οργανοχλωρικά υπήρξαν μελέτες που μέτρησαν διαφορετικούς μεταβολίτες που είχαν όμως σχετική συμφωνία αποτελεσμάτων. Οι Aneck-Hahn et al σε αυξημένα επίπεδα p,p-DDE βρήκαν αυξημένο κίνδυνο για ολιγοσπερμία και τα αυξημένα p,p-DDE p,p-DDT για ασθενοσπερμία ενώ οι Messaros et al μετρώντας τους ίδιους μεταβολίτες εκτός από το χαμηλό αριθμό και κινητικότητα βρήκαν και επηρεασμό της μορφολογίας. (84-85)

Χαμηλή κινητικότητα με αυξημένα επίπεδα ενός άλλου μεταβολίτη του γ-HCH βρήκαν οι Pant et al (86) σε υπογόνιμους άνδρες, ενώ στον ίδιο πληθυσμό στην ίδια μελέτη τα αυξημένα επίπεδα των γ-HCH, β-HCH, p,p-DDE και p,p-DDD σχετίστηκαν με χαμηλό αριθμό σπερματοζωαρίων ευρήματα που συμφωνούν και με άλλη μεταγενέστερη έρευνα (86-87) Επηρεασμό της κινητικότητας από την έκθεση στο DDT ανάλογα με τη συγκέντρωσή του υποστηρίζουν οι Toft et al, ενώ σε μελέτη στο Μεξικό οι De Jager et al εκτός από τον επηρεασμό της κινητικότητας αναφέρονται και σε επηρεασμό της μορφολογίας και μάλιστα της ουράς των σπερματοζωαρίων (88-89)

Τα οργανοφωσφορικά είναι η συχνότερα μελετημένη ομάδα φυτοφαρμάκων. Πολλές από τις εργασίες που αναφέρονται σε αυτά δείχνουν ότι σε αυξημένη ποσότητά τους βρίσκουμε χαμηλή συγκέντρωση, κάποιες από αυτές αναφέρουν επηρεασμένη κινητικότητα, μία εντοπίζει και επηρεασμό της μορφολογίας. Το abamectin φυσικής προέλευσης εντομοκτόνο, ακαρεοκτόνο που παράγεται ως προϊόν ζύμωσης του *Streptomyces avermitilis*, βακτηρίου του εδάφους, έχει βρεθεί ότι βλάπτει την κινητικότητα και τον αριθμό των σπερματοζωαρίων. (90-91)

Αξίζει να σημειωθεί ότι οι Messaros et al περιέγραψαν στη μελέτη τους, εκτός από την επίδραση του DDE-DDT στην κινητικότητα, και τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των οργανοχλωρικών συστατικών και των γονιδίων που εμπλέκονται στο μεταβολισμό τους (85).

Το DDT και ο κύριος μεταβολίτης του το DDE υπάρχουν στο περιβάλλον και συσσωρεύονται στο λιπώδη ιστό των ψαριών, στα πουλιά και στον άνθρωπο. Η επαγγελματική έκθεση γίνεται διαδερμικά και από την εισπνοή ενώ η μη επαγγελματική από την κατανάλωση μολυσμένων τροφών. Ο χρόνος ημίσειας ζωής του DDT στους ανθρώπινους ιστούς είναι περίπου επτά έτη. Τα ξενοβιοτικά όπως το DDE-DDT μεταβολίζονται από τα ένζυμα φάσης I του κυτοχρώματος P450 (CYP), που μπορούν να τα ενεργοποιήσουν ή να τα αδρανοποιήσουν, και από τα ένζυμα φάσης II όπως η τρανσφεράση της γλουταθειόνης (GST) που εμπλέκονται στην αδρανοποίησή τους. Πολυμορφισμοί μπορούν να συμβούν και στο γονίδιο που ελέγχει τα ένζυμα του κυτοχρώματος CYP όπως και στα GSTM1 και στα GSTT1 που οδηγούν στο μη



σχηματισμό των αντίστοιχων πρωτεϊνών-ενζύμων. Οι γενετικοί πολυμορφισμοί στα παραπάνω γονίδια δύνανται να μεταβάλλουν τα αποτελέσματα της έκθεσης σε τοξικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες. Έτσι αποδείχθη ότι τα αποτελέσματα της έκθεσης στα DDE-DDT είναι πιο πολύπλοκα και περιλαμβάνουν αλληλεπιδράσεις μεταξύ των οργανοχλωρικών συστατικών αλλά και των γονιδίων που εμπλέκονται στο μεταβολισμό τους. Άνδρες που είχαν και στα δυο γονίδια GSTM1 και GSTT1 πολυμορφισμούς είχαν αυξημένο κίνδυνο για χαμηλότερο ποσοστό σπερματοζωαρίων με καλή μορφολογία με την έκθεση στο DDT. Βρέθηκε επίσης ότι άτομα με πολυμορφισμούς και στα δυο αλληλόμορφα του GSTT1 έχουν αυξημένους τους δείκτες του οξειδωτικού στρες. Επίσης το γονίδιο CYP1A1 δρα προστατευτικά στη μορφολογία των σπερματοζωαρίων. Είναι αδρανοποιητής του PAH αλλά και των PCBs και εμπλέκεται στο μεταβολισμό των στεροειδών, ανδρογόνων και προγεστερόνης. Κάθε μεταβολή του και πολυμορφισμός του μπορεί να επηρεάσει τη σπερματογένεση. Η ικανότητα των πολυμορφισμών του GSTT1 να αυξάνουν τις αρνητικές επιδράσεις της έκθεσης των ανθρώπων σε χαμηλές συγκεντρώσεις του DDE-DDT είναι ένα ενδιαφέρον ζήτημα που χρειάζεται περαιτέρω επιβεβαίωση και έρευνα.

Ενδιαφέρον όμως είναι να γνωρίζουμε εάν οι ποσότητες των φυτοφαρμάκων που βρίσκονται στα φρούτα και στα λαχανικά είναι ικανές από μόνες τους να επιφέρουν βλαπτικά αποτελέσματα στο ανθρώπινο σπέρμα και εάν είναι δόκιμο να περιοριστεί η κατανάλωσή τους.

Τα φρούτα και τα λαχανικά είναι γνωστό ότι ωφελούν την υγεία όπως και την ποιότητα του σπέρματος. Τα αντιοξειδωτικά που περιέχουν δεσμεύουν και εμποδίζουν τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου να δράσουν προλαμβάνοντας τη βλάβη των σπερματοζωαρίων ενώ επιπρόσθετα σημαντικό θετικό ρόλο έχουν οι φυτικές ίνες, το φυλλικό οξύ. Από την άλλη μεριά όμως η όλο και αυξανόμενη χρήση των φυτοφαρμάκων εγείρει ανησυχία παγκοσμίως. Σε δύο διαδοχικές και συμπληρωματικές μελέτες των Chiu et al βρέθηκε αντίστροφη σχέση μεταξύ της κατανάλωσης φρούτων και λαχανικών με υψηλή περιεκτικότητα σε φυτοφάρμακα και της μορφολογίας καθώς και της συγκέντρωσης του σπέρματος, ενώ η αντίστοιχη συσχέτιση για κατανάλωση φρούτων και λαχανικών με μικρή έως μέτρια ποσότητα φυτοφαρμάκων ήταν θετική. Δηλαδή όσοι κατανάλωναν περισσότερα φρούτα και λαχανικά με λίγα φυτοφάρμακα είχαν αυξημένες τις φυσιολογικές μορφές των σπερματοζωαρίων και τη συγκέντρωση περισσότερο από αυτούς που δεν τα κατανάλωναν. Καμία συσχέτιση δεν αποδείχθηκε για την κινητικότητα. (92-93)

Έτσι τα φυτοφάρμακα είναι η κατηγορία των περιβαλλοντικών παραγόντων που έχουν διερευνηθεί περισσότερο με πολλές εργασίες από πολύ παλιά. Οι μηχανισμοί για τη δράση

τους στο γεννητικό σύστημα του άρρενος είναι πολύπλοκοι και διαφορετικοί επηρεάζοντας σε μεγάλο βαθμό ο ένας τον άλλον. Οι ερευνητές καταλήγουν σε διαφορετικά αποτελέσματα δομώντας τη δουλειά τους με ποικίλους τρόπους, φαίνεται όμως ότι οι περισσότεροι καταλήγουν στο ότι η έκθεση στα φυτοφάρμακα επηρεάζει αρχικά τη συγκέντρωση των σπερματοζωαρίων, αμέσως μετά την κινητικότητα και λιγότερο τη μορφολογία συνήθως αυτή της κεφαλής. Θα μπορούσαμε να πούμε ότι οι μελέτες στην κατηγορία των φυτοφαρμάκων σε σχέση με αυτές των άλλων περιβαλλοντικών παραγόντων αναλύουν περισσότερο τη βλαπτική επίδραση στη μορφολογία και τη συνδέουν με υψηλότερες δόσεις έκθεσης. Ενδιαφέρον είναι ότι αναφέρονται πολυμορφισμοί γονιδίων που δρουν ενισχυτικά (GSTM1, GSTT1 και CYP) στον επηρεασμό της καλής μορφολογίας και ποιότητας των σπερματοζωαρίων γιατί αυτά τα γονίδια ορίζουν τη δημιουργία και έκφραση πρωτεϊνών απαραίτητων για το μεταβολισμό των φυτοφαρμάκων. Εργασίες επίσης υποστηρίζουν ότι η κατανάλωση φρούτων και λαχανικών με μικρή έως μέτρια ποσότητα φυτοφαρμάκων μάλλον είναι ευνοϊκός παράγοντας στις παραμέτρους του σπέρματος γιατί η τοξική τους δράση αντισταθμίζεται από τα οφέλη της κατανάλωσης των αντιοξειδωτικών ουσιών που περιέχονται στις τροφές αυτές. Γενικά η έκθεση στα φυτοφάρμακα εμπλέκει και δίνει το έναυσμα για την κινητοποίηση διάφορων μηχανισμών δράσης σε μοριακό επίπεδο στον οργανισμό, οι οποίοι συνδυαζόμενοι με το γεγονός ότι οι τοξικές αυτές ουσίες έχουν αυξημένο χρόνο ημίσειας ζωής και συσσωρεύονται με το πέρασ του χρόνου, καθώς και με το ότι βρίσκονται σε αφθονία γύρω μας και είναι εύκολα προσβάσιμες, προκαλούν αναμφισβήτητα τοξικά αποτελέσματα και γίνονται ένας μεγάλος κίνδυνος για την αναπαραγωγική και όχι μόνο υγεία του ανθρώπου.

#### **5.4 ΠΡΟΙΟΝΤΑ ΑΠΟΛΥΜΑΝΣΗΣ ΝΕΡΟΥ**

Το πρόβλημα των επικίνδυνων για την υγεία παραπροϊόντων που μπορεί να σχηματιστούν κατά την διάρκεια της απολύμανσης του νερού ανέκυψε στα μέσα της δεκαετίας του 70. Από τότε αποτελεί ένα από τα πλέον συζητημένα και ερευνούμενα ζητήματα της βιομηχανίας πόσιμου νερού στον κόσμο τοποθετώντας το ζήτημα αυτό αλλά και την επεξεργασία του πόσιμου νερού γενικότερα σε νέες βάσεις. Τα απολυμαντικά όπως το χλώριο, που είναι το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο, μπορεί να αντιδράσουν με τις οργανικές ενώσεις φυσικής προέλευσης που βρίσκονται στο προς επεξεργασία νερό και να παραχθούν επικίνδυνες ενώσεις γνωστές ως οργανικά παραπροϊόντα απολύμανσης (disinfection by-products, DBPs). Τα συνηθέστερα είναι τα τριαλογοπαράγωγα του μεθανίου (THMs) όπως χλωροφόρμιο,

βρωμοφόρμιο, χλωροδιβρωμομεθάνιο, βρωμοδιχλωρομεθάνιο καθώς και τα αλονονοπαράγωγα του οξικού οξέος (HAAs). (94)

Οι τρόποι έκθεσης του ανθρώπου στις ουσίες αυτές είναι με τη δερματική απορρόφηση κατά το πλύσιμο των χεριών και του μπάνιου, με την εισπνοή υδρατμών στο ντους και βέβαια με την κατάποση και απορρόφηση του πόσιμου νερού από τον πεπτικό σωλήνα.(95)

Αρκετές εργασίες στα ζώα δηλώνουν ότι υπάρχει σχέση στην ποσότητα κατάποσης και απορρόφησης μέσω του πεπτικού των DBPs, συμπεριλαμβανομένων των THMs αλλά και των HAAs, και στις δυσμενείς επιπτώσεις που επιφέρουν στη λειτουργία του αρσενικού γεννητικού συστήματος. Μερικές από αυτές είναι η άμεση σπερματοτοξικότητα, βλαπτική επίδραση στην ποιότητα του σπέρματος στη μορφολογία και κινητικότητα, καθυστερημένη απελευθέρωση ώριμων σπερματοζωαρίων από τα Sertoli, ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις στους όρχεις και στην επιδυιδιμίδα, παροδική υπογονιμότητα. (96-100)

Εντούτοις, όσον αφορά τον άνθρωπο λίγες εργασίες υπάρχουν που δεν αποδεικνύουν και τεκμηριώνουν ανάλογες επιπτώσεις στο ανδρικό ανθρώπινο γεννητικό σύστημα.

Σε μια μελέτη στις ΗΠΑ συμμετείχαν 228 άνδρες χωρίς προβλήματα γονιμότητας. Η έκθεση στα DBPs συμπεριελάμβανε την κατανάλωση πόσιμου νερού όπως επίσης και τη χρήση νερού για μπάνιο και ντους ενώ μετρήθηκε η ποσότητά τους στο νερό της ύδρευσης. Δε βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ της έκθεσης σε μεγαλύτερη ποσότητα THM και HAA και της κινητικότητας, της μορφολογίας καθώς και της συγκέντρωσης του σπέρματος. (101)

Σε μια άλλη έρευνα μελετήθηκαν 157 υγιείς άνδρες από ζευγάρια που δεν είχαν κάποιο παράγοντα υπογονιμότητας. Τα επίπεδα THM στο νερό μετρήθηκαν, όπως και στις περισσότερες μελέτες, 90 ημέρες πριν τη συλλογή του σπέρματος. Δε βρέθηκε συσχέτιση των επιπέδων THM και των παραμέτρων του σπέρματος παρά μόνο μια μικρή πτώση της κινητικότητας για κάθε αύξηση μιας μονάδας των επιπέδων του βρωμοχλωρομεθανίου (Br-THM). (102)

Στην Κίνα μελετήθηκαν 324 άνδρες που προμηθεύονταν νερό από την ίδια περιοχή και λαμβάνοντας υπ' όψιν όλους τους τρόπους έκθεσης στο νερό βρέθηκε ότι τα TTHM, Br-THM και TCM δεν επηρεάζουν την κινητικότητα παρά μόνο τη συγκέντρωση των σπερματοζωαρίων. Δε μελετήθηκε όμως η μορφολογία. (103)

Καμία συσχέτιση μεταξύ DBPs και κινητικότητας δε βρέθηκε και στην Αγγλία χωρίς κι εδώ να μελετηθεί η μορφολογία. (104)

Μεταβολές στη μορφολογία των σπερματοζωαρίων, αύξηση των μη φυσιολογικών κεφαλών σε υψηλή όμως κατανάλωση TTHM, βρέθηκε από τους Fenster et al οι οποίοι όμως συνιστούν περαιτέρω διερεύνηση των ευρημάτων τους. (105)

Για το σχεδιασμό των μελετών δια τις επιδράσεις των παραπροϊόντων χλωρίωσης του νερού στον άνθρωπο πρέπει να λάβουμε υπ' όψιν όλους τους τρόπους έκθεσης στα DBPs του νερού δηλαδή να πάρουμε πληροφορίες για τους τύπους και την ποσότητα του πόσιμου νερού που καταναλώνεται μετρώντας τα ποτήρια, τη συχνότητα και τη διάρκεια του μπάνιου και ντους κάθε ημέρα, τη θερμοκρασία του νερού που χρησιμοποιείται για το σκοπό αυτό όπως και τη διάρκεια της κολύμβησης σε χλωριωμένη πισίνα εάν υπάρχει αυτή η δραστηριότητα. Με διάφορους μαθηματικούς τύπους συνυπολογίζονται όλες οι παραπάνω πληροφορίες προκειμένου να προσδιορίσουμε την τελική ποσότητα των διαφόρων DBPs στην οποία εκτέθηκε καθένας από τους συμμετέχοντες τους τρεις μήνες πριν τη συλλογή του δείγματος του σπέρματος. Επίσης κάθε παράγωγο THM έχει τη δική του φαρμακοκινητική. Έτσι το Br-THMs μεταβολίζεται περισσότερο σε ενεργούς μεταβολίτες οι οποίοι διανέμονται στο λιπώδη ιστό ενώ τα TCM προερχόμενα από την πόση νερού δρούν παρατεταμένα προκαλώντας βλάβη στους ιστούς στόχους. Μέτρηση των επιπέδων των THM στο αίμα αναφέρεται σε μία μελέτη όπου όμως η μέτρηση έγινε άπαξ με αποτέλεσμα να μην είναι αντιπροσωπευτική. Λόγω της επεμβατικότητας που ενέχει η αιμοληψία είναι δύσκολο να εφαρμοστεί ειδικά πολλές φορές στο ίδιο άτομο.(106)

Θα μπορούσε να πούμε ότι οι μελέτες για την επίδραση των παραπροϊόντων του χλωρίου στην κινητικότητα του σπέρματος είναι λίγες και αυτές για τη μορφολογία ελάχιστες. Αν και λαβαίνοντας υπ' όψιν τη θεωρητική βλαπτική επίδραση των παραπροϊόντων του χλωρίου στη σπερματογένεση θα περιμέναμε επηρεασμό της κινητικότητας και της μορφολογίας των σπερματοζωαρίων, εντούτοις, με τις υπάρχουσες μελέτες μάλλον φαίνεται ότι δεν υπάρχει. Όλες όμως συστήνουν περαιτέρω διερεύνηση του θέματος ενώ ανάγκη είναι να υπάρξουν κοινές γραμμές γιατί λόγω της μεγάλης ετερογένειας των ενώσεων και των ιδιοτήτων τους δεν είναι δυνατό να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα.

## 5.5 ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΙΚΟΙ ΡΥΠΟΙ

Η ατμοσφαιρική ρύπανση είναι ευρέως γνωστό ότι έχει παρενέργειες και βλαπτικά αποτελέσματα στην υγεία του ανθρώπου συμπεριλαμβανομένων των καρδιοαναπνευστικών νόσων, της περιγεννητικής νοσηρότητας αλλά και του νευρικού συστήματος. (107-110)

Συσχετίζεται με συστηματική αύξηση της φλεγμονής στον οργανισμό καθώς και του οξειδωτικού στρες ενώ θεωρείται και σημαντικός παράγοντας καρκινογένεσης. (111)

Παρότι στα ζώα πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι υπάρχει αναμφισβήτητη σχέση μεταξύ της ρύπανσης του αέρα και τόσο της γονιμότητας όσο και της ποιότητας σπέρματος οι

αντίστοιχες συσχετίσεις για τους ανθρώπους δεν έχουν πλήρως προσδιοριστεί και αποσαφηνιστεί. (112-114)

Οι κυριότεροι ρύποι είναι το διοξείδιο του θείου (SO<sub>2</sub>), το μονοξείδιο του άνθρακα (CO), τα οξείδια του αζώτου (NO<sub>x</sub>), οι υδρογονάνθρακες (HC), τα αιωρούμενα σωματίδια (PM = particulate matter) και το όζον (O<sub>3</sub>). Η έκθεση στην ατμοσφαιρική ρύπανση έχει υπολογισθεί ότι προκάλεσε περισσότερους από 3.7 εκατομμύρια πρόωρους θανάτους έως το 2012. Ιδιαίτερος λόγος γίνεται για τον επικίνδυνο ρόλο των PM τα οποία ταξινομούνται ανάλογα με τη διάμετρό τους. Αυτά που έχουν διάμετρο μικρότερη του 10 μm και ιδιαίτερα μικρότερη του 2,5 μm φαίνεται ότι έχουν τις περισσότερες αρνητικές επιδράσεις στην υγεία.

Χωρίς να υπάρχει συμφωνία μεταξύ όλων των μελετών φαίνεται ότι η ατμοσφαιρική ρύπανση επηρεάζει τη μορφολογία, την κινητικότητα του σπέρματος και λιγότερο έως καθόλου τη συγκέντρωσή του. Έχει βρεθεί ότι ο αριθμός των σπερματοζωαρίων σχετίζεται θετικά με τα επίπεδα της FSH που με τη σειρά της έχει σημαντικό ρόλο στην επιβίωση των γεννητικών κυττάρων και είναι ρυθμιστής της ορχικής λειτουργίας δηλαδή είναι απαραίτητη για τη σπερματογένεση. Η αρχική παραγωγή του σπέρματος όμως καθορίζεται από τα επίπεδα της FSH η και αφού δεν έχει βρεθεί ότι τα επίπεδα της FSH επηρεάζονται από την ατμοσφαιρική ρύπανση είναι πολύ πιθανό ότι η τελευταία επιδρά σε μεταγενέστερα επίπεδα της σπερματογένεσης. (115-116)

Για τα ίδια χρονικά στάδια επίδρασης αναφέρονται και οι Rubes et al υποστηρίζοντας ότι η τοξική επίδραση των ενεργών μεταβολιτών των PM<sub>10</sub> που φτάνουν στους όρχεις και αντιδρούν με το DNA του σπέρματος για να δημιουργήσουν σύμπλοκα, λαμβάνει χώρα στα τελευταία στάδια της σπερματογένεσης, όταν δεν υπάρχουν επιδιορθωτικοί μηχανισμοί και έτσι προκύπτει αυξημένος κατακερματισμός του DNA του σπέρματος με τα επακόλουθα αποτελέσματα. (117)

Οι Hamoud et al υποστηρίζουν ότι τα PM 2.5 επιδρούν στη σύνθεση κάποιων πρωτεϊνών που επηρεάζουν την κινητικότητα του σπέρματος κατά τη διέλευσή του στο ανδρικό γεννητικό σύστημα. Γι αυτό τα PM 2.5 επηρεάζουν την κινητικότητα και όχι τις άλλες παραμέτρους. (118)

Έχει επίσης υποστηριχθεί ότι το O<sub>3</sub>, ισχυρό οξειδωτικό, προκαλεί βλάβη στο DNA μέσω του μηχανισμού του οξειδωτικού στρες το οποίο με τη σειρά του επηρεάζει την ορχική λειτουργία και την ποιότητα του σπέρματος. (119)

Άλλες μελέτες υποστηρίζουν ότι το O<sub>3</sub> δρα απευθείας στο DNA στον πυρήνα των σπερματοζωαρίων βλάπτοντας την κινητικότητά τους. (120-121)

Οι Guven et al προσπάθησαν να μελετήσουν την επίδραση της ρύπανσης με diesel, ενός μίγματος πολλαπλών ρύπων, συμπεριλαμβανομένων αερίων, σωματιδίων και βαρέων μετάλλων. Έγιναν πειράματα σε ποντίκια που εκτεθήκανε σε υψηλές δόσεις των ρύπων αυτών και βρέθηκε ότι είχε επηρεαστεί όλη η διαδικασία της παραγωγής του σπέρματος, οι σπερματίδες και τα κύτταρα Sertoli, ενώ ταυτόχρονα παρατηρήθηκαν ενδιάμεσο οίδημα, εκφυλιστικές και νεκρωτικές αλλοιώσεις, καθώς και καταστροφή του σπερματικού επιθηλίου τα οποία χειροτέρευαν όσο η ποσότητα του diesel γινόταν μεγαλύτερη. Τα πειράματα αυτά σαφώς έδειξαν ότι η έκθεση σε μεγάλη ποσότητα μολυσματικών αερίων επηρεάζει τη σπερματογένεση. Παρότι όμως οι ποσότητες αυτές είναι μεγέθη στα οποία ο άνθρωπος δεν εκτίθεται και επομένως τα συμπεράσματα αυτά δεν είναι δυνατό να ισχύουν αυτούσια για το ανθρώπινο είδος, εντούτοις μπορούμε να πούμε ότι δυνητικά η σπερματογένεση επηρεάζεται και στον άνθρωπο σε άλλοτε άλλο βαθμό από την έκθεσή του σε αυτά. Η εργασία αυτή έδειξε μεταβολές στην κινητικότητα και στη μορφολογία και στον αριθμό των σπερματοζωαρίων.(122)

Στην Τσεχία μελετήθηκαν άντρες που είχαν εκτεθεί σε υψηλή ατμοσφαιρική ρύπανση σε μία βιομηχανική περιοχή και συγκρίθηκαν με τα αποτελέσματα αντίστοιχης μελέτης σε περιοχή με χαμηλότερη ρύπανση. Παρατηρήθηκε ότι στην περιοχή με τη μεγαλύτερη ρύπανση υπήρχε μεγαλύτερο ποσοστό ανώμαλων μορφών σπερματοζωαρίων, μειωμένη κινητικότητα όπως και περισσότερο αυξημένος κατακερματισμός DNA σπέρματος (123)

Στις πιο πολλές μελέτες ο επηρεασμός των παραμέτρων του σπέρματος παρατηρήθηκε μετά την έκθεση σε ρύπους του περιβάλλοντος που είχαν συγκεντρώσεις εντός των επιτρεπόμενων ορίων, γεγονός που μας επιτρέπει να ισχυριστούμε ότι οι παράμετροι του σπέρματος μπορούν να είναι πρώιμοι δείκτες της τοξικής επίδρασης της ατμοσφαιρικής ρύπανσης (124)

Πιο λίγες εργασίες αναφέρονται σε επίπεδα έκθεσης σε ρύπανση υψηλότερα των ανώτερων επιτρεπόμενων ορίων (125-127)

Αξίζει να αναφέρουμε τα αποτελέσματα κάποιων μελετών που βρήκαν ότι ο αυξημένος κατακερματισμός του DNA του σπέρματος σχετίζεται με κάποιους πολυμορφισμούς σε μεταβολικά γονίδια, συμπεράσματα που ίσως μας βοηθούν να εμβαθύνουμε περισσότερο στους μηχανισμούς με τους οποίους η ατμοσφαιρική ρύπανση επηρεάζει την ποιότητα και τις παραμέτρους του σπέρματος. Οι Rube et al υποστηρίζουν ότι οι άντρες που είναι ομόζυγοι για τη glutathione-S transferase M1 (GSTM1) έχουν μικρότερη ικανότητα να απενεργοποιούν ενεργούς μεταβολίτες των καρκινογενετικών πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων hydrocarbon (c-PAHs) που είναι οι υπεύθυνοι για τα αρνητικά αποτελέσματα της

ατμοσφαιρικής ρύπανσης στη χρωματίνη του σπέρματος και επομένως τα άτομα αυτά είναι περισσότερο ευαίσθητα. (128)

Οι ίδιοι συγγραφείς μελέτησαν επίσης την ύπαρξη κάποιων πολυμορφισμών σε επιδιορθωτικά γονίδια (XRCC1, XPD6 και XPD2 3) συσχετίζοντας την ύπαρξή τους με υψηλό και μεσαίου βαθμού βλάβη του DNA του σπέρματος (129)

Η μελέτη των Noble et al έδειξε ότι καμία άλλη παράμετρος δε συσχετίζεται με την ατμοσφαιρική ρύπανση εκτός της μορφολογίας και συγκεκριμένα τα χαρακτηριστικά της κεφαλής, το μικρότερο μέγεθος και το αυξημένο ποσοστό με ακρόσωμα. Η υποψία για τις μικρότερες κεφαλές είχε αναφερθεί και σε κάποιες άλλες εργασίες. Όσον αφορά το ακρόσωμα, εάν και πρέπει περαιτέρω να επιβεβαιωθεί, φαίνεται ότι η έκθεση σε χαμηλά έως μεσαία επίπεδα ατμοσφαιρικής ρύπανσης οδηγούν σε μικρές αλλαγές μέσω ήπιου οξειδωτικού στρες και μια δυνητικά επακόλουθη αύξηση της ακροσωμικής αντίδρασης και όχι στις αρνητικές συνέπειες της έκθεσης σε υψηλά επίπεδα. (130)

Για τη μορφολογία αναφέρονται και οι Lao et al οι οποίοι μελέτησα 6475 άτομα στην Ταιβάν από το 2001-2014 παρακολουθώντας την έκθεσή τους στα PM<sub>2.5</sub> για τρεις μήνες και για δύο χρόνια. Χαρακτηριστικό της μελέτης αυτής εκτός από τη μακροχρόνια παρακολούθηση είναι και ο τρόπος μέτρησης των ρύπων που έγινε για κάθε άτομο χωριστά ακριβώς για το χώρο που έμενε με τη βοήθεια κάποιου δορυφορικού συστήματος. Η αύξηση της συγκέντρωσης των PM<sub>2.5</sub> κατά 5 μg/m<sup>3</sup> σχετίστηκε με μείωση της σωστής μορφολογίας κατά 0.83% για τη βραχυχρόνια έκθεση των τριών μηνών και κατά 1.29% για την έκθεση των δύο ετών. Δεν παρατηρήθηκε επηρεασμός της κινητικότητας ενώ βρέθηκε αύξηση της συγκέντρωσης.(131) Σε κάποιες μελέτες λοιπόν περιγράφεται μείωση της κινητικότητας του σπέρματος από τους ατμοσφαιρικούς ρύπους (116,122,123,127) και σε άλλες όχι (117,119,126,130,131) ενώ για τη σωστή μορφολογία οι περισσότερες μελέτες συμφωνούν ότι υπάρχει επηρεασμός αυτής (116, 122,123,126,130,131)

Εκτός από τα γενικότερα προβλήματα που έχουμε στις μελέτες που σχετίζονται με δείγματα σπέρματος όσον αφορά την ατμοσφαιρική ρύπανση προστίθενται και αυτά της μέτρησης των ρύπων. Συνήθως υπολογίζονται οι μέσες συγκεντρώσεις των ατμοσφαιρικών ρύπων από ένα κεντρικό σταθμό ελέγχου για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα, συνήθως για 90 ημέρες πριν τη συλλογή του δείγματος καλύπτοντας κατ' αυτόν τον τρόπο όλη τη διάρκεια της σπερματογένεσης, ή άλλες φορές προσμετράται ένας ετήσιος μέσος όρος. Λιγότερες φορές γίνονται μετρήσεις για κάθε εξεταζόμενο χωριστά και καθημερινά ανάλογα με τον τόπο που μένει, διεύθυνση – ταχυδρομικό κώδικα, χρησιμοποιώντας διάφορα μοντέλα υπολογισμού ή χρησιμοποιώντας μετρήσεις του πιο κοντινού. Οι μελέτες επίσης αποδίδουν τις αλλαγές

στην ποιότητα του σπέρματος στις μετρήσεις των ρύπων 90 ημέρες πριν τη λήψη του δείγματος χωρίς να συνυπολογίζουν τις τυχόν μόνιμες αλλαγές που έχουν συμβεί λόγω αυτών προγενέστερα, τις περισσότερες φορές δεν αναφέρεται η διάρκεια της έκθεσης στους ρύπους και δεν ξέρουμε εάν το άτομο είχε την ίδια έκθεση καθημερινά. Οι πιο πολλές μελέτες αναφέρονται στα αποτελέσματα μιας σύντομης έκθεσης στην ατμοσφαιρική ρύπανση. Αυτό όμως που πραγματικά πρέπει να μελετηθεί είναι το αποτέλεσμα μιας μακροχρόνιας χαμηλής συγκέντρωσης έκθεσης που αντιστοιχεί στις πραγματικές συνθήκες διαβίωσης του ανθρώπου στις σύγχρονες πόλεις.

Θα λέγαμε ότι η ποικιλομορφία των μεθοδολογιών των μετρήσεων των ατμοσφαιρικών ρύπων και η ποικιλότητα αυτών συνδυαζόμενες με τις ιδιαιτερότητες της εκτίμησης των παραμέτρων του σπέρματος και του τρόπου ζωής δημιουργούν δυσκολίες στη σύγκριση των διαφόρων μελετών για την εξαγωγή εμπειριστατωμένων συμπερασμάτων και τη γενίκευση αυτών. Τα αποτελέσματα της χρόνιας έκθεσης σε μέτρια επίπεδα ατμοσφαιρικής ρύπανσης στα οποία ζούμε δεν είναι καλά τεκμηριωμένα και οι μηχανισμοί δράσης δεν έχουν πλήρως διαλευκανθεί και κατανοηθεί και χρειάζονται περισσότερες και μακροχρόνιες μελέτες για την επίδραση αυτής γενικότερα στο όλο και αυξανόμενο πρόβλημα της υπογονιμότητας. Έχει όμως αποδειχθεί ότι υπάρχει σαφώς μια αρνητική συσχέτιση μεταξύ της έκθεσης σε όλα τα είδη των ατμοσφαιρικών ρύπων και της καλής μορφολογίας του σπέρματος, ειδικά της κεφαλής, καθώς και μεταξύ ορισμένων από αυτούς, ενδεικτικά αναφέρονται τα PM 2.5, και της κινητικότητας. Συσχετισμός υπάρχει και με κάποιους πολυμορφισμούς σε μεταβολικά γονίδια, GSTM1 XRCC1, XPD6 και XPD2 3

## 5.6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Για τις τοξικές περιβαλλοντικές ενώσεις που μελετήθηκαν στην παρούσα πτυχιακή εργασία αποδεικνύεται *in vitro* αλλά και *in vivo* σε πειραματόζωα ότι οι περιβαλλοντικοί παράγοντες, ειδικά σε μεγάλες ποσότητες, επηρεάζουν την κινητικότητα και τη μορφολογία του σπέρματος. Μεγάλη ετερογένεια, εντούτοις, υπάρχει στις μελέτες στον ανθρώπινο πληθυσμό και ειδικά στην έκθεση σε μικρότερες συγκεντρώσεις τοξικών ουσιών που καθημερινά υπάρχουν στο περιβάλλον. Έτσι όσον αφορά τον άνθρωπο, για τη δισφαινόλη φαίνεται ότι για έκθεση σε μέτριες έως χαμηλές ποσότητες η κινητικότητα μάλλον επηρεάζεται αρνητικά ενώ για τη μορφολογία δεν υπάρχουν επαρκείς ενδείξεις. Αντίστοιχα για την έκθεση στις φθαλικές ενώσεις στις εργασίες με υπογόνιμους άνδρες έχουμε μειωμένη κινητικότητα ενώ σε μελέτες με ομάδες γόνιμων ανδρών τα αποτελέσματα είναι ετερογενή χωρίς σαφείς συσχετίσεις. Ακολούθως στην έκθεση στα προϊόντα απολύμανσης



του νερού δεν έχει βρεθεί αρνητικός επηρεασμός της κινητικότητας παρά μόνο στο βρωμοχλωρομεθάνιο, ενώ για τη μορφολογία οι εργασίες είναι πολύ λίγες και δεν ενάγεται κανένα συμπέρασμα. Πολλές όμως μελέτες που αναφέρονται σε φυτοφάρμακα και ατμοσφαιρικούς ρύπους, στις συνήθεις συγκεντρώσεις που υπάρχουν στο περιβάλλον, αποδεικνύουν ότι οι τοξικές αυτές ουσίες επηρεάζουν αρνητικά την κινητικότητα και την καλή μορφολογία του ανθρώπινου σπέρματος. Κάποιοι πολυμορφισμοί γονιδίων (όπως GSTM1, GSTT1 και CYP) αναφέρεται ότι εντείνουν τον επηρεασμό της καλής μορφολογίας και ποιότητας των σπερματοζωαρίων γιατί αυτά τα γονίδια ορίζουν τη δημιουργία και έκφραση πρωτεϊνών απαραίτητων για το μεταβολισμό αρκετών τοξικών ουσιών όπως των φυτοφαρμάκων. Εργασίες επίσης υποστηρίζουν ότι η κατανάλωση φρούτων και λαχανικών με μικρή έως μέτρια ποσότητα φυτοφαρμάκων μάλλον είναι ευνοϊκός παράγοντας στην καλή μορφολογία των σπερματοζωαρίων γιατί η τοξική τους δράση αντισταθμίζεται από τα οφέλη της κατανάλωσης των αντιοξειδωτικών ουσιών που περιέχονται στις τροφές αυτές.

Είναι ολοφάνερο ότι περισσότερα δεδομένα χρειάζονται για να τεκμηριωθεί εμπειριστωμένα η επίδραση των περιβαλλοντικών παραγόντων και ιδιαιτέρως η έκθεση σε χαμηλές δόσεις, από τις οποίες καθημερινά βάλλεται ο άνθρωπος, στη μορφολογία στην κινητικότητα αλλά και γενικότερα στην ποιότητα του σπέρματος.

Αίτια αυτής της ετερογένειας είναι η φαρμακοκινητική και ο τρόπος μέτρηση των τοξικών ουσιών, η βιοδιαθεσιμότητά τους, η ποικιλότητα και το πλήθος των μεταβολιτών τους, οι πιθανές συνέργειες μεταξύ τους καθώς και οι ιδιαιτερότητες που διέπουν τις μελέτες που αφορούν το σπέρμα. Σε ορισμένες περιπτώσεις επίσης μεσολαβεί ένα σημαντικό χρονικό διάστημα από την έκθεση έως την εμφάνιση των συμπτωμάτων κάνοντας τη μελέτη της δράσης τους ιδιαίτερα δύσκολη. Η αξιολόγηση εκθέσεων του παρελθόντος σε περιβαλλοντικούς ρύπους αποτελεί συνήθως μια αδυναμία των επιδημιολογικών μελετών. Επίσης οι περισσότερες μελέτες είναι επιπολασμού, εκλείπουν οι προοπτικές που θα οδηγούσαν σε ασφαλέστερα συμπεράσματα.

Από τις τοξικές περιβαλλοντικές ενώσεις που μελετήθηκαν στην παρούσα πτυχιακή εργασία φαίνεται ότι πολλά από τα φυτοφάρμακα και αρκετοί ατμοσφαιρικοί ρύποι, στις συνήθεις συγκεντρώσεις που υπάρχουν στο περιβάλλον, επηρεάζουν την κινητικότητα και τη μορφολογία του ανθρώπινου σπέρματος

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΔΡΑΣΗΣ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΣΤΗ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΚΙΝΗΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ**

### **6.1 ΓΕΝΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΔΡΑΣΗΣ**

### 6.1.1 ΟΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΩΣ ΕΝΔΟΚΡΙΝΙΚΟΙ ΔΙΑΤΑΡΑΚΤΕΣ

Η βιομηχανική εποχή έφερε χιλιάδες ανθρωπογενείς ουσίες που κατασκευάστηκαν για χάρη της βελτίωσης της ζωής μας. Έφερε εντομοκτόνα, φυτοφάρμακα, καλλυντικά και πολλά ανεπιθύμητα παράγωγα της βιομηχανικής επεξεργασίας, όπως το χλώριο και τις διοξίνες. Δεν ήταν όμως ευθύς εξ αρχής γνωστές οι επιπτώσεις τους στο περιβάλλον και στην υγεία των έμβιων όντων ούτε και στην υγεία του ανθρώπου. Κανένας δεν γνώριζε εξ αρχής ότι οι ουσίες αυτές είχαν ένα κοινό γνώρισμα: να μιμούνται τις ορμόνες και να παρεμβαίνουν στο ορμονικό σύστημα των ανθρώπων αλλά και των ζώων, με αποτέλεσμα να προκαλούν το φαινόμενο της ενδοκρινικής διατάραξης, γι' αυτό και αποκαλούνται ενδοκρινικοί διαταράκτες.

Σύμφωνα με τον ορισμό που έχει δοθεί ως ενδοκρινικοί διαταράκτες (endocrine disrupting chemicals -ECDC), χαρακτηρίζονται οι εξωγενείς ενώσεις ή μίγματα ενώσεων που μπορούν να προκαλέσουν δυσμενείς επιδράσεις στην υγεία ενός οργανισμού ή στους απογόνους του εξαιτίας μεταβολών που προκαλούν στην ενδοκρινική λειτουργία. Οι ενώσεις αυτές μπορούν να επηρεάσουν τη σύνθεση, έκκριση, μεταφορά, προσκόλληση, δράση, απενεργοποίηση ή εξάλειψη των φυσικών ορμονών στο σώμα. (132)

Τις τελευταίες δεκαετίες οι ουσίες αυτές προβληματίζουν και απασχολούν σημαντικά όλους αυτούς που ασχολούνται με τη δημόσια υγεία. Η χρήση τους είναι πολύ διαδεδομένη και οι πηγές έκθεσης πολλαπλές αφού μπορεί να είναι με προφανείς τρόπους από την τροφή, το νερό, τον αέρα και το έδαφος, αλλά και επιπρόσθετα μέσω της μητρικής οδού (μέσω του πλακούντα και μέσω του θηλασμού)

Η έκθεση στους ενδοκρινικούς διαταράκτες αφορά όλον τον πληθυσμό της γης. Ο άνθρωπος όμως είναι περισσότερο ευάλωτος στις χημικές αυτές ουσίες κατά την εμβρυϊκή ζωή και κατά την παιδική ηλικία, καθώς ενδέχεται να παρέμβουν στη διαδικασία της ανάπτυξης. Ορισμένες χημικές ουσίες της κατηγορίας αυτής ή τα παράγωγά τους μπορεί να δρουν με πολλαπλούς μηχανισμούς και σε ορισμένες περιπτώσεις μεσολαβεί ένα σημαντικό χρονικό διάστημα από την έκθεση έως την εμφάνιση των συμπτωμάτων. Συνεπώς, η μελέτη της δράσης τους γίνεται ιδιαίτερα δύσκολη. Υπάρχει ανάγκη υλοποίησης επιδημιολογικών μελετών ώστε να χαρακτηριστούν και να διευκρινιστεί η δράση τους, αλλά κυρίως κρατικών μηχανισμών πρόληψης για να αποφευχθεί η έκθεση στις ουσίες αυτές.

Ως ενδοκρινικοί διαταράκτες λοιπόν μπορεί να δράσουν, μίγματα χημικών ουσιών, συνήθως με μεγάλο χρόνο ημιζωής, προϊόντα της χημικής βιομηχανίας, όπως τα πολυχλωριωμένα διφαινύλια (polychlorinated biphenyls, PCBs) (έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως ως μονωτικά

υλικά), τα πολυβρωμιούχα διφαινύλια (polybrominated biphenyls, PBBs) (έχουν χρησιμοποιηθεί ως επιβραδυντικά ανάφλεξης σε ηλεκτρικές συσκευές και πλαστικά), οι διοξίνες, τα πλαστικά, όπως η διφαινόλη-Α (bisphenol-A, BPA) (χρησιμοποιούνται σε πλαστικά μπιμπερόν, μπουκάλια νερού, κουτιά αναψυκτικών κ.λπ.), οι πλαστικοποιητές, όπως οι φθαλικές ενώσεις (χρησιμοποιούνται σε παιδικά παιχνίδια, προϊόντα περιποίησης, συσκευασίες τροφίμων κ.λπ.), τα φυτοφάρμακα (όπως το DDT και ο μεταβολίτης του το DDE), ορισμένα φάρμακα όπως η diethylstilbestrol, τα φυτοοιστρογόνα και τα βαρέα μέταλλα.

Λόγω της φθίνουσας ποιότητας του σπέρματος και των επιπέδων τεστοστερόνης αλλά και των αυξημένων περιπτώσεων καρκίνου των όρχεων στον ανδρικό πληθυσμό, οι επιστήμονες ερευνητές αλλά και όλη η κοινότητα ανησυχούν ιδιαίτερως για το δυνητικό κίνδυνο στην αναπαραγωγική υγεία του άνδρα.

Οι ενδοκρινικοί διαταράκτες είναι γνωστό πλέον ότι έχουν οιστρογονικές ιδιότητες και την ικανότητα να δεσμεύονται στους υποδοχείς και να συναγωνίζονται τα ενδογενή οιστρογόνα. Στον άνδρα διαταράσσουν τη στεροειδογένεση μεταβάλλοντας τις αναπαραγωγικές ορμόνες οι οποίες είναι σημαντικός παράγοντας της σπερματογένεσης. Δρουν ως αντιανδρογόνα, αντιοιστρογόνα ενώ ταυτόχρονα εμποδίζουν τα στεροειδογενετικά ένζυμα που εμπλέκονται στη δράση και παραγωγή των ορμονών. Επίσης αλληλεπιδρούν με τις θυρεοειδικές ορμόνες και τους υποδοχείς τους ακόμα και με τον εγκέφαλο και τον υποθαλαμουποφυσιακό άξονα.(133)

Οι ενδοκρινικοί διαταράκτες όμως εκτός από τις επιδράσεις τους στο ορμονικό σύστημα φαίνεται ότι δρουν και μέσω άλλων μηχανισμών όπως του οξειδωτικού στρες και των επιγενετικών αλλαγών που είναι δυνατό να επιφέρουν. Κατ' αυτόν τον τρόπο προεκτείνουν τη βλαπτική τους επίδραση και αποκτούν κεντρικό και βασικό ρόλο στη δυσλειτουργία του ανδρικού αναπαραγωγικού συστήματος.

### **6.1.2 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΣΤΟ ΣΠΕΡΜΑ**

Οξειδωτικό στρες είναι η υπερβολική παραγωγή δραστικών ελευθέρων ριζών οξυγόνου (Reactive Oxygen Species-ROS) με ταυτόχρονη περιορισμένη δράση των αμυντικών αντιοξειδωτικών μηχανισμών του κυττάρου. (134)

Φυσιολογικά η συγκέντρωση των ROS και των αντιοξειδωτικών ουσιών βρίσκονται σε ισορροπία. Υψηλά επίπεδα ROS ανιχνεύονται στο σπέρμα του 25-40% των υπογόνιμων ανδρών ενώ συνεισφέρουν στην αιτιολογία στο 30-80% του συνόλου των περιπτώσεων ανδρικής υπογονιμότητας.(135)

Τα μόρια των δραστικών ελεύθερων ριζών κατατάσσονται σε δύο ομάδες : στις ρίζες π.χ. ανιόν υδροξυλίου, υπεροξειδίου, μονοξειδίου του αζώτου, ρίζα υπεροξυλίου και στα μη ριζικά μόρια (π.χ. όζον ανιόν οξυγόνου, υπεροξειδίου του υδρογόνου, λιπιδική υπεροξειδάση).

Στο σπέρμα σημαντικότερες πηγές ROS είναι τα λευκοκύτταρα και τα σπερματοζωάρια τα οποία έχουν υπολείμματα κυτταροπλασματικής σταγόνας (134). Ο αυξημένος αριθμός λευκοκυττάρων (>1.000.000/ml σύμφωνα με τον ΠΟΥ) έχει συσχετισθεί με την παραγωγή ROS. Τα πολυμορφοπύρρηνα που αποτελούν το 50-60% του συνόλου των θετικών σε υπεροξειδάση λευκοκυττάρων του σπέρματος προέρχονται από τον προστάτη και τις σπερματοδόχους κύστες. Η παρουσία φλεγμονής ή λοίμωξης ενεργοποιεί αυτά τα λευκοκύτταρα τα οποία στη συνέχεια επάγουν την παραγωγή εκατονταπλάσιων ποσοτήτων ROS, σε σχέση με τα μη ενεργοποιημένα. Επίσης τα κυτταροπλασματικά υπολείμματα έχουν μεγάλη ποσότητα του ενζύμου G6PD το οποίο ελέγχει την παραγωγή γλυκόζης και την ενδοκυτταρική παραγωγή NADPH η οποία πυροδοτεί την δημιουργία ROS. Αυτή η διεργασία λαμβάνει χώρα στην κυτταρική μεμβράνη μέσω του συστήματος NADPH οξειδάσης και ειδικά στους υπογόνιμους άνδρες στα μιτοχόνδρια μέσω μηχανισμού οξειδοαναγωγής εξαρτώμενης από το NADPH. Οι ROS σε χαμηλές συγκεντρώσεις είναι απαραίτητες και έχουν ρυθμιστικό ρόλο σε διάφορες διεργασίες όπως η ωρίμανση σπερματοζωαρίων στην επιδιδυμίδα, η παρουσία φυσιολογικής συγκέντρωσης σπερματοζωαρίων, ο βαθμός υπερενεργοποίησης, η ικανότητα του σπερματοζωαρίου να υφίσταται ακροσωμική αντίδραση, η σύνδεση του σπερματοζωαρίου με το ωάριο, η σταθεροποίηση της μιτοχονδριακής κάψουλας στο ενδιάμεσο τμήμα(136). Οι στόχοι δράσης των ROS στα κύτταρα είναι δυνητικά όλα τα μακρομόρια (λιπαρά οξέα, πρωτεΐνες, νουκλεϊνικά οξέα και σάκχαρα). Στις χημικές αντιδράσεις που συμμετέχουν οι ROS απομακρύνεται το ελεύθερο ηλεκτρόνιό τους γεγονός που οδηγεί στην οξείδωση των λιπιδίων των μεμβρανών, των αμινοξέων των πρωτεϊνών και των υδατανθράκων εντός των νουκλεϊνικών οξέων.(135)

Όπως σε όλα τα αερόβια κύτταρα έτσι και στα σπερματοζωάρια πρέπει για τη σωστή λειτουργία τους να υπάρχει μια ισορροπία μεταξύ των ROS και των αντιοξειδωτικών ουσιών. Από τη μια μεριά το οξυγόνο και οι ελεύθερες ρίζες που προκύπτουν από το μεταβολισμό σε φυσιολογικά επίπεδα συνιστούν σημαντικό παράγοντα για την κυτταρική λειτουργία και από την άλλη όταν τα επίπεδα αυξηθούν πολύ έχουν καταστρεπτική δράση στο κύτταρο. Η παρουσία ROS σε χαμηλές συγκεντρώσεις είναι απαραίτητη για την σωστή πραγματοποίηση της ακροσωμικής αντίδρασης, της υπερενεργοποίησης (hyperactivation), της ενδυνάμωσης (capacitation), της πρόωθησης και της σύζευξης σπερματοζωαρίου και ωαρίου. (134)

Τα σπερματοζωάρια είναι ένας εύκολος στόχος για τη δράση των ελεύθερων ριζών γιατί έχουν ελάχιστο κυτταρόπλασμα που είναι απαραίτητο για την ύπαρξη των αντιοξειδωτικών ενζυμικών αμυντικών μηχανισμών αλλά και γιατί η μεμβράνη τους είναι πλούσια σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα τα οποία παρουσιάζουν ευαισθησία στη δράση των ελεύθερων ριζών. Η δράση των ROS στα λιπαρά οξέα των μεμβρανών επάγει μια σειρά χημικών αντιδράσεων γνωστών ως λιπιδική υπεροξειδωση. Ένα από τα υποπροϊόντα είναι το μόριο της μαλοναλδεύδης το οποίο αποτελεί δείκτη του βαθμού της οξειδωτικής λιπιδικής καταστροφής των σπερματοζωαρίων. (137)

Δράση στη μεμβράνη : Η αυξημένη παρουσία ROS έχει συσχετισθεί με μείωση της κινητικότητας των σπερματοζωαρίων. Το υπεροξείδιο του υδρογόνου διαχέεται μέσω της κυτταρικής μεμβράνης και αναστέλλει τη λειτουργία της G6PD και άλλων ενζύμων. Έτσι μειώνεται το NADPH και εμποδίζεται η δημιουργία προστατευτικών αντιοξειδωτικών μηχανισμών όπως της γλουταθειόνης. Επίσης οι ROS προκαλούν μείωση της μεμβρανικής ρευστότητας και συνεπακόλουθα μείωση της φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών του αξονήματος και ακινητοποίηση του σπερματοζωαρίου. (134,136)

Δράση στο DNA : Σημαντική είναι η δράση των ROS στο πυρηνικό DNA. Επιτίθενται με άμεσο τρόπο στις βάσεις πουρίνης και πυριμιδίνης καθώς και στο δεοξυριβοζονικό σκελετό του μορίου του DNA. Τόσο η πακεταρισμένη δομή του με τις πρωταμίνες όσο και η αντιοξειδωτική δράση του σπερματικού υγρού προστατεύουν το σπερματοζωάριο από αυτή την επίθεση. Ωστόσο οι υπογόνιμοι άνδρες παρουσιάζουν ελλιπή πρωταμίνωση γεγονός που καθιστά σε αυτές τις περιπτώσεις το μόριο του DNA ιδιαίτερα ευπαθές σε οξειδωτικές επιδράσεις. Οι προκαλούμενες βλάβες είναι τροποποιήσεις βάσεων, ελλείψεις, επιχιασμοί και χρωμοσωμικές ανακατατάξεις. Επίσης το οξειδωτικό στρες έχει συσχετισθεί με παρουσία κατατμήσεων στο DNA. Οι γενετικές μεταλλάξεις με τη σειρά τους (σημειακές μεταλλαγές ή πολυμορφισμοί) με την επίδραση οξειδωτικού στρες και την επακόλουθη πρόκληση επιδείνωσης στην ποιότητα του σπέρματος. (134,136, 137)

Δράση στο μιτοχονδριακό DNA : Το μιτοχονδριακό DNA επειδή δε συνδέεται με πρωτεΐνες εμφανίζει πολύ υψηλότερο βαθμό μεταλλάξεων από το πυρηνικό DNA και είναι πιο ευάλωτο στις βλάβες που προκαλούν οι ROS. Έτσι στα σπερματοζωάρια εκτός από τις βλαπτικές επιδράσεις των ROS στο DNA του πυρήνα έχουμε και επιδράσεις και στο μιτοχονδριακό. Η αυξημένη αυτή οξειδωτική επίδραση στα μιτοχόνδρια με τις επακόλουθες μεταλλαγές στο mtDNA σχετίζεται με μείωση της κινητικότητας των σπερματοζωαρίων. (138)

Οξειδωτικό stress και απόπτωση : Η παρουσία υψηλών επιπέδων ROS στο σπέρμα προκαλεί επίσης διατάραξη της εσωτερικής και εξωτερικής μεμβράνης των μιτοχονδρίων του

σπερματοζωαρίου επάγοντας την απελευθέρωση πρωτεϊνών , ενζύμων του κυτοχρώματος C και ενεργοποιώντας τις κασπάσες γεγονός που οδηγεί στην απόπτωση. Έχει βρεθεί ότι σε υπογόνιμους άνδρες η υπερβολική καταστροφή των σπερματοζωαρίων λόγω ROS συνδέεται με αυξημένα επίπεδα κυτοχρώματος C και κασπάσης 9 και 3 που αποτελούν δείκτες απόπτωσης. Η ενεργότητα της κασπάσης έχει εντοπισθεί στο πρόσθιο μέρος του ακροσώματος και στο ενδιάμεσο τμήμα του σπερματοζωαρίου. Η παρεμπόδιση της αμυντικής αντιοξειδωτικής δράσης του κυττάρου όπως από την έλλειψη γλουταθειόνης φαίνεται ότι επίσης συμβάλλει στην απόπτωση των σπερματοζωαρίων (134,137)

### **6.1.3. ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ**

Επιγενετική είναι η μελέτη κληρονομήσιμων αλλαγών στην έκφραση των γονιδίων χωρίς αλλαγές στην αλληλουχία του DNA. Οι τρεις κύριοι επιγενετικοί μηχανισμοί είναι η μεθυλίωση του DNA, οι τροποποιήσεις της ιστόνης και η ύπαρξη μικρο-RNAs (miRNAs). Και οι τρεις μηχανισμοί μπορούν να ρυθμίσουν τη μεταγραφή των γονιδίων τροποποιώντας την πρόσβαση στους υποκινητές γονιδίων (gene promoters) και στις ρυθμιστικές περιοχές. Η μεθυλίωση του DNA, ο επιγενετικός μηχανισμός που έχει μελετηθεί καλύτερα στις περισσότερες έρευνες, αφορά την προσθήκη μεθυλικών ομάδων στις κυτοσίνες με τη συμμετοχή ενζύμων γνωστών ως μεθυλοτρανσφεράσες (methyltransferases). Αυτή η προσθήκη έχει σαν αποτέλεσμα τη συμπίεση της χρωματίνης και συνεπώς την καταστολή της έκφρασης του γονιδίου. Η μεθυλίωση του DNA συνεισφέρει επίσης στη διατήρηση της ακεραιότητας του γονιδιώματος, εμποδίζοντας τη μεταγραφή των επαναλαμβανόμενων αλληλουχιών του DNA (repetitive DNA sequences) και των ενδογενών μεταθετών (transposons) . Οι τροποποιήσεις της ιστόνης αφορούν μετα-μεταφραστικές αλλαγές στις ιστόνες, τις σφαιρικές πρωτεΐνες που σχηματίζουν τη χρωματίνη και ταξινομούν το DNA σε νουκλεοσώματα. Αυτές οι τροποποιήσεις μπορεί να είναι ακετυλίωση, μεθυλίωση, φωσφορυλίωση, κιτρουλινίωση, ή και ριβοζυλίωση με διφωσφορική αδενοσίνη και επιδρούν σε ποικίλες βιολογικές διεργασίες, όπως τη ρύθμιση των γονιδίων και την επιδιόρθωση του DNA (π.χ. η ακετυλίωση της ιστόνης συνήθως σχετίζεται με ενεργοποίηση του γονιδίου). Τα miRNAs είναι μονής-αλυσίδας τμήματα RNA που δεν μεταφέρουν κώδικες για πρωτεϊνοσύνθεση και ρυθμίζουν αρνητικά την έκφραση των γονιδίων δεσμεύοντας περιοχές αγγελιοφόρων RNA (mRNAs). (139)

Οι επιγενετικοί μηχανισμοί έχουν συσχετιστεί με έκθεση σε περιβαλλοντικούς ρύπους. Ενδεικτικά η έκθεση σε τοξικά μέταλλα, συμπεριλαμβανομένων του αρσενικού, καδμίου, μολύβδου, νικελίου, χρωμίου, και μεθυλο-υδραργύρου, έχει συνδεθεί με παρεκκλίνουσες

αλλαγές στη μεθυλίωση του DNA και τροποποιήσεις της ιστόνης . Είναι γνωστό ότι τα μέταλλα αυξάνουν την παραγωγή αντιδραστικών ριζών οξυγόνου (reactive oxygen species), και οι οξειδωτικές βλάβες του DNA μπορούν να τροποποιήσουν την ικανότητα των μεθυλοτρανσφερασών να αλληλοεπιδρούν με το DNA έχοντας σαν αποτέλεσμα την παρέκκλιση από τα φυσιολογικά πρότυπα μεθυλίωσης του DNA (140)

Η έκθεση σε αέριους ρύπους, όπως η σωματιδιακή ύλη, ο μαύρος άνθρακας και το βενζόλιο έχει επίσης συσχετιστεί με αλλαγές στη γενική και/ή ειδική για συγκεκριμένα γονίδια μεθυλίωση του DNA. Αυτές οι αλλαγές προσομοιάζουν τις επιγενετικές αλλαγές που έχουν ανευρεθεί σε νοσήματα που έχουν συσχετιστεί με έκθεση στους αέριους ρύπους, όπως καρδιαγγειακά νοσήματα και αιματολογικές κακοήθειες. Χημικά που προκαλούν ενδοκρινικές διαταραχές και τοξικές για το αναπαραγωγικό σύστημα ουσίες [δισφαινόλη Α, διοξίνη, διαιθυλστυλβεστρόλη, επίμονοι οργανικοί ρύποι (persistent organic pollutants), παρασιτοκτόνα, και χημικά στο πόσιμο νερό] είναι επίσης μερικές άλλες χημικές ουσίες που η σχέση τους με επιγενετικές αλλαγές έχει διερευνηθεί σε πειραματικές και εργαστηριακές μελέτες αλλά και σε μελέτες σε ανθρώπους

Τα ευρήματα που συσχετίζουν τις περιβαλλοντικές εκθέσεις με επιγενετικούς δείκτες αυξάνονται ταχέως, ενώ υπάρχουν μελέτες που έχουν συσχετίσει τους ίδιους ή παρόμοιους επιγενετικούς δείκτες με νοσήματα ή νοσούντες ιστούς που έχουν αιτιολογικώς συνδεθεί με τις ίδιες περιβαλλοντικές εκθέσεις. Ωστόσο, δεν είναι ακόμη γνωστό αν οι επιγενετικές αλλαγές που παρατηρούνται έπειτα από έκθεση σε τοξικές ουσίες βρίσκονται στην αιτιολογική αλυσίδα μεταξύ έκθεσης και νοσήματος. Είναι πιθανό οι αλλαγές στο επιγονιδίωμα να θέτουν τα εκτεθειμένα άτομα επιρρεπή στην ανάπτυξη του νοσήματος. Επιπρόσθετα, οι επιγενετικές επιδράσεις μπορεί να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στον καθορισμό κινδύνων που μεταφέρονται από γενεά σε γενεά όπως επίσης και στην εμβρυϊκή προέλευση των νοσημάτων. Υπάρχουν αναφορές χημικών ουσιών που έχουν προκαλέσει δυσμενείς συνέπειες οι οποίες μεταδίδονται από γενεά σε γενεά και η μετάδοση επιγενετικών αλλαγών έχει προταθεί ως δυνητικά ενδιάμεσο στάδιο (141,142)

Η έκθεση σε περιβαλλοντικούς χημικούς παράγοντες κατά την προγεννητική και πρώιμη παιδική ηλικία σε κρίσιμα στάδια της ανάπτυξης έχει βρεθεί να προκαλεί επιγενετικές αλλαγές, οι οποίες στη συνέχεια ενδεχομένως να προκαλούν δυσμενείς επιδράσεις στην υγεία στην ενήλικη ζωή και άλλες φορές να μεταβιβάζονται στις επόμενες γενεές.(143-144) Η αξιολόγηση εκθέσεων του παρελθόντος σε περιβαλλοντικούς ρύπους αποτελεί συνήθως μια αδυναμία των επιδημιολογικών μελετών. Οι επιγενετικοί δείκτες έχουν τη δυνατότητα να βελτιώσουν την αξιολόγηση της έκθεσης στην έρευνα επειδή μπορεί να διατηρηθούν

ακόμα και όταν η έκθεση έχει σταματήσει εξαιτίας της ικανότητας τους να μεταδίδονται μέσω της κυτταρικής διαίρεσης. Συνεπώς, έχουν τη δυνατότητα να αντιπροσωπεύουν παρελθούσες έως και ενδομήτριες περιβαλλοντικές εκθέσεις δρώντας ως μοριακά αρχεία των εκθέσεων αυτών.

Η περιβαλλοντική επιγενετική είναι αναμφίβολα ένας αναπτυσσόμενος τομέας, οι εξελίξεις του οποίου μπορεί να προσφέρουν ενδείξεις για το πώς οι περιβαλλοντικές τοξικές ουσίες επιδρούν δυσμενώς στην ανθρώπινη υγεία. Ωστόσο, υπάρχουν πολλές δυσκολίες και προκλήσεις στη μελέτη της σχέσης των επιγενετικών μηχανισμών με τοξικές εκθέσεις και σχετικές εκβάσεις νοσημάτων. Κάθε περιβαλλοντική έκθεση μπορεί να προκαλεί επιγενετικές τροποποιήσεις που ποικίλλουν από ιστό σε ιστό και αυτή η ποικιλότητα μπορεί να επεκταθεί και στο κυτταρικό επίπεδο. Συνεπώς, οι επιγενετικές επιδράσεις μπορεί να μην είναι δυνατόν να γενικευθούν σε άλλους ιστούς και οι μελλοντικές μελέτες πρέπει να εξετάσουν τις επιγενετικές επιδράσεις των ίδιων περιβαλλοντικών παραγόντων σε διαφορετικούς ιστούς. Μια άλλη πρόκληση που αντιμετωπίζουν οι ερευνητές είναι το γεγονός ότι οι παρατηρούμενες αλλαγές του επιγονιδιώματος μπορεί να μην προηγούνται του νοσήματος αλλά αντίθετα να επηρεάζονται από την ύπαρξη του νοσήματος. Οπότε, η αντίστροφη αιτιότητα (reverse causation) πρέπει να λαμβάνεται υπόψη σε αυτές τις μελέτες εφόσον οι επιγενετικοί δείκτες μπορούν να αλλάξουν με την πάροδο του χρόνου. Για να καθιερωθεί μια αιτιολογική συσχέτιση, είναι απαραίτητος ο καλός σχεδιασμός προοπτικών μελετών, ώστε να συλλέγουν προοπτικά πληροφορίες σχετικές με την έκθεση, να μετρούν σωστά τους κατάλληλους δείκτες επιγενετικών αλλαγών στους ιστούς-στόχους, και παράλληλα να συλλέγουν πληροφορίες σχετικές με τις προκλινικές και τις κλινικές εκβάσεις των νοσημάτων ενδιαφέροντος.(141-142)

Υπολογίζεται ότι ένα ποσοστό της τάξης του 20% των περιπτώσεων υπογονιμότητας παραμένει ανεξήγητη. Πλέον, είμαστε σε θέση να υποθέσουμε ότι πολλές από αυτές τις περιπτώσεις οφείλονται σε επιγενετικές τροποποιήσεις. Εστιάζοντας στην ανδρική υπογονιμότητα, η μεθυλίωση του DNA μπορεί να επηρεάσει το σπέρμα κατά τη διάρκεια της παραγωγής του στους όρχις ή κατά την ωρίμανση των σπερματοζωαρίων στην επιδιδυμίδα. Ως αποτέλεσμα, το σπέρμα αυτό μπορεί να επηρεάσει την ικανότητα γονιμοποίησης, ή ακόμα και την ποιότητα της εμβρυϊκής ανάπτυξης. Δεδομένου ότι υπάρχουν διάφορα γονίδια που σχετίζονται με τη γονιμότητα, η μη φυσιολογική μεθυλίωση μπορεί να είναι η απάντηση σε πολλές περιπτώσεις. Λόγω αυτής της μη φυσιολογικής τροποποίησης για παράδειγμα μπορεί να επηρεάζονται γονίδια που σχετίζονται με την ικανότητα των σπερματοζωαρίων να «εντοπίζουν» το ωάριο ή την ικανότητά τους να διεισδύουν σε αυτό.



Ιδιαίτερα ενδιαφέρον είναι το γεγονός ότι η μη φυσιολογική μεθυλίωση μπορεί να συμβαίνει, την ίδια στιγμή όμως όλες οι άλλες παράμετροι του σπέρματος (π.χ. συγκέντρωση, μορφολογία, κινητικότητα) να παρουσιάζονται φυσιολογικές. Είναι αυτονόητο λοιπόν, ότι μια απλή ανάλυση σπέρματος δεν είναι αρκετή για να διαγνώσει τέτοιες περιπτώσεις.

## **6.2 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΔΡΑΣΗΣ ΕΠΙΜΕΡΟΥΣ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ**

### **6.2.1 ΔΙΣΦΑΙΝΟΛΗ Α**

Μέχρι σήμερα, επιστημονικές μελέτες έχουν δείξει ότι κάτω από ειδικές συνθήκες (π.χ. υψηλή θερμοκρασία, και εκτεταμένος χρόνος αποθήκευσης τροφίμου, επανειλημμένη χρήση-καταπόνηση), το BPA μπορεί να εισχωρήσει στο τρόφιμο και εν συνεχεία στον ανθρώπινο οργανισμό επιφέροντας πολλές διαταραχές. Μια σειρά μελετών για το μεταβολισμό του έχουν πραγματοποιηθεί σε πειραματόζωα, κυρίως σε επίμους. Τα αποτελέσματα των ερευνών αυτών δείχνουν ότι το BPA απορροφάται ταχέως από το γαστρεντερικό σύστημα (ΓΕΣ) μετά από την κατάποση και στη συνέχεια μεταβολίζεται κυρίως συνδεδεμένο με γλυκουρονικό οξύ σε γλυκουρονίδιο BPA στο ήπαρ και όντας περισσότερο υδρόφιλο αποβάλλεται μέσω των νεφρών. Το μη δεσμευμένο με γλυκουρονίδιο, δηλαδή το ελεύθερο BPA είναι αυτό που είναι υπεύθυνο για τις αρνητικές επιδράσεις στην υγεία του ανθρώπου. Δομικά το BPA είναι ανάλογο των οιστρογόνων και κυρίως δρα ως ενδοκρινικός διαταρράκτης (endocrine disrupting chemical -EDC). Είναι δηλαδή σύμφωνα με τον ορισμό όπως έχει ήδη αναφερθεί ένας εξωγενής παράγοντας που παρεμβάλεται στην παραγωγή, απελευθέρωση, μεταφορά, δέσμευση, δράση ή περιορισμό των φυσικών ορμονών στον ανθρώπινο οργανισμό οι οποίες με τη σειρά τους είναι υπεύθυνες για τη διατήρηση της ομοιόστασης και τη ρύθμιση της αναπτυξιακής διαδικασίας. (145-146)

Επιπρόσθετα όμως έχει βρεθεί και ένας άλλος σημαντικός τρόπος δράσης του που είναι η πρόκληση επιγενετικών αλλαγών μέσω κυρίως της υπομεθυλίωσης του DNA, ενώ δρα και απευθείας στον ορχικό ιστό (147)

Παρότι η έκθεση όλων των έμβιων όντων και του ανθρώπου στο BPA είναι όλο και μεγαλύτερη και όλο και περισσότερο διερευνάται, εντούτοις υπάρχουν απορίες σχετικά με τους μοριακούς μηχανισμούς δράσης, με τη διαφορετική ανταπόκριση κάθε ιστού στην έκθεση του στην ουσία αυτή αλλά ακόμα και σε ποια χρονική περίοδο οι ιστοί στόχοι είναι περισσότερο ευαίσθητοι στις δράσεις του και στις παρενέργειες που προκαλεί.

Σε μοριακό επίπεδο υπάρχουν αρκετοί τρόποι και μονοπάτια μέσω των οποίων το BPA επηρεάζει, τροποποιεί και καθορίζει τις κυτταρικές απαντήσεις. Ως μη στεροειδές

οιστρογόνο παρεμβαίνει στη δράση των ενδογενών οιστρογόνων αφού συνδεεται με τους οιστρογονικούς πυρηνικούς υποδοχείς ERα και ισχυρότερα με τους ERβ, οι οποίοι έχουν ευρεία κατανομή στον ανθρώπινο οργανισμό έχοντας εντοπισθεί ακόμα και στα ίδια τα σπερματοζωάρια. (148)

Έτσι παράγονται στη συνέχεια σήματα τροποποιημένα που αλλάζουν την προκαθορισμένη έκφραση των εξαρτώμενων από τα οιστρογόνα γονιδίων. Οι μηχανισμοί για τη ρύθμιση και έκφραση αυτών των γονιδίων μέσω των υποδοχέων είναι πολύπλοκοι και εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από την παρουσία των ειδικών για κάθε ιστό συνρρυθμιστικών παραγόντων που διαφορετικά κάθε φορά επηρεάζουν την αλληλεπίδραση των υποδοχέων (ER) με τις ειδικές θέσεις δέσμευσης στους εκκινητές (EREs) και προκαλούν τις συνακόλουθες μεταβολές στη μεταγραφή των γονιδίων.(149)

Ταυτόχρονα φαίνεται ότι υπάρχει υψηλή συγγένεια και με δυο μεμβρανικούς οιστρογονικούς υποδοχείς τη G πρωτεΐνη-coupled estrogen receptor 30 και το μεμβρανικό οιστρογονικό υποδοχέα α (mERα) καθώς και με έναν πυρηνικό υποδοχέα γ που σχετίζεται με τα οιστρογόνα. Επίσης το BPA δεσμεύεται στον ανδρογονικό υποδοχέα, peroxome proliferator-activated receptor γ εμποδίζοντας τη δράση των ανδρογόνων και σε υποδοχείς των θυρεοειδικών ορμονών σύμφωνα με παρατηρήσεις σε ζώα. (146,150-152)

Πιο συγκριμένα για το ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα έχει βρεθεί ότι οι χαμηλές δόσεις BPA μειώνουν τη βιοσύνθεση της τεστοστερόνης κατά 25% ως αποτέλεσμα της μειωμένης έκφρασης του ενζύμου 17 α μονοοξυγενάσης, της 17 β οιστραδιόλης λόγω της παρεμπόδισης της δράσης της αρωματάσης, ενώ ακόμα πιο χαμηλές δόσεις μειώνουν τα επίπεδα mRNA της LH και αυξάνουν την έκφραση των υποδοχέων ERβ στην υπόφυση.(153)

Σε κάποια άλλη μελέτη περιγράφηκε η επίδραση του BPA στον πυρηνικό υποδοχέα Nur 77 με συνακόλουθες μεταβολές στη στεροειδογένεση των όρχεων. (154)

Βρέθηκε επίσης ότι υπάρχει άμεση βλαπτική επίδραση του BPA στη σπερμιόγνεση και σπερματογένεση. Στους όρχεις τα κύτταρα Sertoli εκφράζουν μεμβρανικές πρωτεΐνες που δημιουργούν μεσοκυττάρους συνδέσμους απαραίτητους για τη σωστή σπερματογένεση. Έχει παρατηρηθεί ότι το BPA όπως και άλλες τοξικές ουσίες τους επηρεάζουν είτε ελαττώνοντας την ποσότητα των πρωτεϊνών τους είτε μετακινώντας τις σε μη σωστές έκτοπες ενδοκυττάριας θέσεις.(155-156)

Το οξειδωτικό stress, μηχανισμός που συμμετέχει σε πολλές διεργασίες του οργανισμού μας φαίνεται ότι μάλλον έχει θέση και στη δημιουργία των αρνητικών αποτελεσμάτων του BPA (157)

Όλα τα παραπάνω υποδηλώνουν σαφώς τα αρνητικά αποτελέσματα που μπορεί να επιφέρει στο ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα και στις παραμέτρους του σπέρματος η έκθεση στο BPA και το ερώτημα είναι εάν ακόμα και οι συνήθεις συγκεντρώσεις που υπάρχουν στο περιβάλλον δύναται και σε ποιο βαθμό να έχουν βλαπτικές επιδράσεις.

### 6.2.2 ΦΘΑΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

Όπως το BPA έτσι και οι φθαλικές ενώσεις παρεμβάλλονται στις ορμονικές διαδικασίες, διακόπτουν το BTB, επηρεάζουν τη λειτουργία των κυττάρων Sertoli, απορρίπτουν τα αρχέγονα γεννητικά κύτταρα και δίνουν το έναυσμα για την απόπτωσή τους. Επίσης είναι δυνατό να δημιουργήσουν επιγενετικές αλλαγές γονιδίων που εμπλέκονται στη σπερματογένεση, στη βιοσύνθεση της χοληστερίνης, στην παραγωγή της τεστοστερόνης και στο οξειδωτικό stress. Ορισμένες μάλιστα φθαλικές ενώσεις όπως το DEHP, MEHP παρατηρήθηκε ότι επάγουν επιγενετικές αλλαγές που φαίνονται ότι είναι η κύρια αιτία για τη διαιώνιση της υπογονιμότητας από γενεά σε γενεά. (158-159)

Οι δύο πιο καλά μελετημένες φθαλικές ενώσεις είναι το diethylhexyl phthalate (DEHP) και ο μεταβολίτης του mono-2-ethylhexyl phthalate (MEHP). Και οι δύο έχουν διάφορους μηχανισμούς με τους οποίους επηρεάζουν την παραγωγή του σπέρματος. Αρχικά δρουν ως ενδοκρινικοί διαταράκτες και έχει αποδειχθεί ότι μειώνουν την έκφραση των στεροειδογενετικών ενζύμων, κυρίως του κυτοχρώματος P450<sub>scc</sub> και της πρωτεΐνης StAR ενώ συμβάλλουν στη μείωση της παραγωγής της τεστοστερόνης. (160)

Το DEHP σε μεγαλύτερες ποσότητες μειώνει το επίπεδο της τεστοστερόνης ενώ σε χαμηλές αυξάνει το επίπεδο αυτής γεγονός που οδηγούν σε ορμονική ανισορροπία και απόπτωση των γενετικών κυττάρων. Το MEHP δρα στα κύτταρα Sertoli αυξάνοντας την έκφραση των Fas, FasL και των κασπασών και επομένως την απόπτωσή τους (161)

Βρέθηκε ότι το DEHP μειώνει την έκφραση των γονιδίων DDx3Y, Usp9Y, RBM, E1F1AY, EGF, FSHR και EGFR ενώ αυξάνει την έκφραση των Cyp17a1, Cyp19a1, LHR και FSHR. Το προϊόν του γονιδίου DDx3Y ανήκει στην οικογένεια των DEAD (asp-glu-ala-asp) box RNA ελκασών που έχουν σημαντικό ρόλο από τη σύνθεση μέχρι και την αποδόμηση του RNA. Αυτό το γονίδιο βρίσκεται στην περιοχή του Y χρωμοσώματος που σχετίζεται με την αζωσπερμία και μελέτες δείχνουν ότι η μετάλλαξη ή η αρνητική ρύθμιση της πρωτεΐνης που εκφράζει σχετίζεται άμεσα με βλαπτικές επιδράσεις στο σπέρμα. Παρόμοιο ρόλο με το DDx3y έχουν και τα γονίδια Usp9y (Ubiquitin specific peptidase 9 Y-linked) and RBM (RNA binding motif) που εδράζονται και αυτά στην ίδια περιοχή του Y χρωμοσώματος. Επίσης έχει αναφερθεί ότι το DEHP ελαττώνει τον αριθμό των MLH1 foci στα χρωμοσώματα στο στάδιο

της παχυταινίας. Η MLH1 είναι η πρωτεΐνη κλειδί που εμπλέκεται στον ομόλογο ανασυνδυασμό μεταξύ των χρωμοσωμάτων. Είναι απαραίτητα για την crossover formation και του μηχανισμού διόρθωσης λαθών DNA mismatch repair (MMR). Μεταβολές αυτής της πρωτεΐνης επηρεάζουν τον ομόλογο ανασυνδυασμό και προάγουν την παύση της μείωσης (162)

Όσον αφορά το μεταβολίτη MEHP οι Zhang et al βρήκαν ότι προκαλεί θετική ρύθμιση στο γονίδιο MTA1 το οποίο είναι υπεύθυνο για μια πρωτεΐνη που προκαλεί αποκετυλίωση στα γονίδια στόχους της και είναι ρυθμιστής της λειτουργίας των κυττάρων Sertoli. Άλλες μελέτες αναφέρουν ότι η έκθεση στο MEHP αυξάνει την έκφραση του MYC μεταγραφικού παράγοντα ο οποίος με τη σειρά του αυξάνει την πρωτεΐνη MTA1 και στη συνέχεια αυτή καταστέλει την έκφραση της TIMP πρωτεΐνης. Η σωστή ισορροπία των TIMP2 και MMPs είναι προϋπόθεση για να μπορέσουν τα γεννητικά κύτταρα να δεχθούν τη στήριξη των κυττάρων Sertoli. Όταν μειώνεται η έκφραση των TIMP αυξάνει αυτή των MMPs για να απομακρυνθούν στη συνέχεια σύμπλοκα πρωτεϊνών προσκόλλησης όπως η αββ1 integrin laminin-333 ενώ οι λαμίνες που απελευθερώνονται δρουν ως αυτοκρινικοί παράγοντες που προκαλούν ενδοκύτωση των vesicle mediated πρωτεϊνών διακόπτοντας το BTB. Ταυτόχρονα η MTL1 διεγείρει την έκφραση των NF-κβ και προάγει την απελευθέρωση των κυτοκινών IL-1α, IL-1β, IL-6 καθώς και τον παράγοντα νέκρωσης των όγκων TNFα ουσίες που συμβάλουν στη δημιουργία των απαραίτητων συμπλόκων πρωτεϊνών για τους δεσμούς στο σπερματικό επιθήλιο. Δηλαδή η έκθεση στο MEHP ενεργοποιεί το MTA1-NF-κβ καταρράκτη, ασκεί αρνητική ρύθμιση στο TIMP, παρεμβαίνει στα σύμπλοκα πρωτεϊνών που δημιουργούν συνδέσεις στο επιθήλιο Sertoli, ενεργοποιεί την απόπτωση μέσω FAS οδηγώντας στην καταστροφή του BTB και το θάνατο των γεννητικών κυττάρων (163-164)

### **6.2.3 ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΑ**

Μελέτες δείχνουν ότι τα φυτοφάρμακα δρουν ως ενδοκρινικοί διαταράκτες και βλάπτουν τη σπερματογένεση επηρεάζοντας τις λειτουργίες των ορμονών και την έκφραση των γονιδίων. Έτσι ασκούν δράση στις ορμονικές ισορροπίες, δημιουργούν επιγενετικές αλλαγές και παρεμβάλλονται στις λειτουργίες των κυττάρων Sertoli επιφέροντας αλλαγές στη μορφολογία των σπερματοζωαρίων και στον αριθμό τους. Επίσης έχει παρατηρηθεί ότι παράγουν ελεύθερες ρίζες και προάγουν το οξειδωτικό στρες στα κύτταρα οδηγώντας τα στην απόπτωση. Αναλυτικότερα κάποια από τα πυρεθροειδή (εντομοκτόνα) αυξάνουν τα επίπεδα του υπεροξειδίου του υδρογόνου και ακολούθως την υπεροξειδίωση των λιπιδίων στις περιοχές του όρχεως που είναι πλούσιες σε μιτοχόνδρια και μικροσωματικά ένζυμα ασκώντας

επίδραση στα ανδρογόνα, αυξάνοντας τον αριθμό των ανώμαλων σπερματοζωαρίων και μειώνοντας την παραγωγή σπέρματος. (165)

Για το Round up έχει βρεθεί ότι προκαλεί οξειδωτικό στρες το οποίο ενεργοποιεί πολλά μονοπάτια αντιδράσεων που επιφέρουν το θάνατο στα κύτταρα Sertoli. Αυτό το γεγονός αυξάνει το  $Ca^{+2}$  το οποίο προκαλεί διαταραχή της ομοιόστασης του ασβεστίου. Ένας μηχανισμός που έχει προταθεί γι' αυτή τη δράση περιλαμβάνει την ενεργοποίηση των τύπου L-εξαρτωμένων από την ηλεκτρική τάση καναλιών ασβεστίου που με τη σειρά τους ενεργοποιούν πολλαπλές πρωτεϊνικές κινάσες (PKC,PKA και P13K ) καθώς και τα MAPK σηματοδοτικά μονοπάτια. Επίσης η γλυφωσάτη φαίνεται ότι είναι και ενδοκρινικός διαταράκτης προκαλώντας μεταβολές στη δράση της αρωματάσης και στα επίπεδα της τεστοστερόνης. (166)

Τόσο για το μεταβολίτη του DDT, p,p-DDE (167) όσο και για το Round up έχει βρεθεί ότι δημιουργούν μια δυσλειτουργία των μιτοχονδρίων. Λόγω του σημαντικού ρόλου των μιτοχονδρίων στη βιοσύνθεση των στεροειδών ορμονών αλλά και στην ολοκλήρωση των λειτουργιών των υποδοχέων τους, στην παραγωγή ενέργειας και στο οξειδωτικό στρες φαίνεται ότι οποιαδήποτε δυσλειτουργία τους επηρεάζει την κινητικότητα του σπέρματος αλλά και τη γενικότερη τύχη του κυττάρου, την επιβίωση ή την απόπτωσή του. (78-79)

Η εξαχλωροκυκλοεξάνη που ανήκει και αυτή στα πυρεθοειδή αλλάζει τη δράση της δευδρογενάσης της σορβιτόλης και της γλυκοζο-6-φωσφορικής δευδρογενάσης, της γ γλουταμυλ τρανσπεπτιδάσης καθώς και της β γλουκουρονιδάσης. Λόγω αυτών μειώνονται τα επίπεδα της τεστοστερόνης, ο αριθμός των σπερματοζωαρίων και η κινητικότητα (168)

Το lindane διεγείρει την έκφραση του FAS, το επίπεδο 3 της κασπάσης και το FASL και προάγει την απόπτωση των γεννητικών κυττάρων ακόμα και όταν χορηγηθεί σε μία και μόνο δόση των 5 mg/kg βάρους σώματος. Επίσης μπλοκάρει τη σύνθεση των ανδρογόνων και καταστρέφει τα κύτταρα Sertoli. (169)

Το μεθομόλιο ένα καρβαμικό παράγωγο προκαλεί βλάβες στους όρχεις και σταματά τη σπερματογένεση.(170)

Το διβρωμοχλωροπροπάνιο (DBCP) δημιουργεί αλλαγές στον πυρήνα των σπερματίδων προκαλώντας αζωωσπερμία, ολιγοσπερμία, αλλαγές στη μορφολογία των κυττάρων Sertoli και επηρεάζοντας αρκετά στάδια της διαφοροποίησης των γεννητικών κυττάρων. Το DDT προάγει την απόπτωση στα Sertoli με τη βοήθεια των μιτοχονδρίων. (171-172)

Φαίνεται λοιπόν ότι τα φυτοφάρμακα επηρεάζουν άμεσα τα κύτταρα των όρχεων παράγοντας ελεύθερες ρίζες, μειώνουν τα επίπεδα της τεστοστερόνης, μεταβάλουν τη

μορφολογία και λειτουργία των κυττάρων Sertoli ενώ προκαλούν δυσλειτουργία των μιτοχονδρίων. Επίσης έχει παρατηρηθεί ότι προκαλούν επιγενετικές αλλαγές μερικές από τις οποίες μεταβιβάζονται στις επόμενες γενεές, ενισχύονται οι τοξικές τους επιδράσεις με την ύπαρξη πολυμορφισμών σε συγκεκριμένα γονίδια που συμμετέχουν στο μεταβολισμό τους, αλλά και παρεμβάλλονται στην ενδοκρινική λειτουργία

#### **6.2.4 ΠΡΟΙΟΝΤΑ ΑΠΟΛΥΜΑΝΣΗΣ ΝΕΡΟΥ**

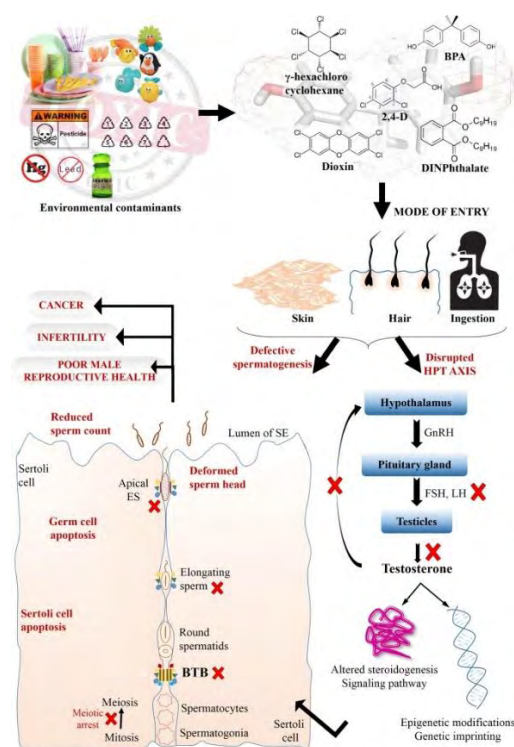
Η βλαπτική δράση των παραπροϊόντων του νερού στη μορφολογία και κινητικότητα των σπερματοζωαρίων δεν έχει αποδειχθεί. Τα THM είναι η μεγαλύτερη κατηγορία των DBPs και έχει αποδειχθεί ότι προκαλούν βλάβη στο DNA και οξειδωτικό στρες. Οι Gemma et al βρήκαν ότι ο μεταβολισμός των TCM παράγει ελεύθερες ρίζες και συνδέεται με χαμηλή GSH ενώ οι Yuan et al υποστήριξαν ότι το χλωριωμένο πόσιμο νερό αυξάνει τη μαλοναλδεύδη και μειώνει τη γλουταθειώνη δοσοεξαρτώμενα στα HepG2 κύτταρα προκαλώντας επίσης οξειδωτικό στρες. Επίσης τα THMs πιθανώς έχουν βλαπτικές επιδράσεις στα κύτταρα Leydig και Sertoli και γενικότερα στους όρχεις όπως επίσης δημιουργούν μια ανδρογονική ανεπάρκεια με μειωμένη την ολική τεστοστερόνη, παράγοντες που δυνητικά οδηγούν σε επηρεασμό της ποιότητας του σπέρματος.(173-176)

#### **6.2.5 ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΙΚΟΙ ΡΥΠΟΙ**

Πολλοί μηχανισμοί εμπλέκονται στους μηχανισμούς δράσης των ατμοσφαιρικών ρύπων στις παραμέτρους του σπέρματος και περισσότερο στη μορφολογία. Ενδεικτικά αναφέρονται οι αναφορές των Lao et al. Στην εργασία τους για την επίδραση των PM2.5 στις παραμέτρους του σπέρματος υπεύθυνους για τον επηρεασμό της μορφολογίας θεωρούν αρχικά το οξειδωτικό στρες και τις ελεύθερες ρίζες που παράγει, οι οποίες με τους μεταβολίτες τους καταστρέφουν το DNA, τα λιπίδια και της πρωτεΐνες μεταβάλλοντας τα ενζυμικά συστήματα και την κυτταρική απόπτωση και επομένως βλάπτοντας και την ποιότητα του σπέρματος. Επίσης υποστηρίζουν ότι τα PM 2.5 φέρουν διάφορα στοιχεία και πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες (PAHs). Τα μεν στοιχεία όπως ο μόλυβδος και το κάδμιο επηρεάζουν τη σπερματογένεση άμεσα, οι δε PAHs δρουν και ως ενδοκρινικοί διαταράκτες με τα ανάλογα αποτελέσματα. Η αυξημένη συγκέντρωση αποδόθηκε στο γεγονός ότι έκθεση σε χαμηλής συγκέντρωσης αέριων ρύπων μπορεί να αυξήσει τα επίπεδα της FSH και LH (hormesis phenomenon) οι οποίες ενδυναμώνουν τη σπερματογένεση και τη συγκέντρωση των σπερματοζωαρίων. (131)

### 6.3 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Οι περιβαλλοντικοί τοξικοί παράγοντες δρουν με πολλαπλούς μηχανισμούς και μέσω ποικίλων μονοπατιών που πολλές φορές το ένα συναντά και επηρεάζει το άλλο. Εισέρχονται στον ανθρώπινο οργανισμό με την κατάποση, την εισπνοή και τη διαδερμική απορρόφηση ενώ συνήθως οι μεταβολίτες τους απεκκρίνονται με τα ούρα. Λειτουργούν ως ενδοκρινικοί διαταράκτες δεσμευόμενοι σε υποδοχείς ορμονών, επηρεάζοντας τον υποθάλαμο, την υπόφυση, την FSH, την LH, την τεστοστερόνη αλλά και απευθείας στον ορχικό ιστό, στα κύτταρά του και στους βιοχημικούς κύκλους του. Το οξειδωτικό στρες είναι ένας βασικός μηχανισμός μέσω του οποίου οι περιβαλλοντικοί παράγοντες βλάπτουν την κινητικότητα και τη μορφολογία των σπερματοζωαρίων. Επηρεάζει τη μεμβράνη του σπερματοζωαρίου, το DNA του πυρήνα του, το μιτοχονδριακό DNA αλλά και την απόπτωση. Επίσης Οι επιγενετικοί μηχανισμοί έχουν συσχετιστεί με έκθεση σε περιβαλλοντικούς ρύπους. Η μεθυλίωση του DNA μπορεί να επηρεάσει το σπέρμα κατά τη διάρκεια της παραγωγής του στους όρχεις ή κατά την ωρίμανση των σπερματοζωαρίων στην επιδιδυμίδα. Πολλές φορές όμως σε αυτές τις περιπτώσεις οι κλασικές παράμετροι του σπέρματος όπως η μορφολογία και η κινητικότητα δεν επηρεάζονται και μια απλή ανάλυση σπέρματος δεν είναι αρκετή



Εικ. 5. Περιβαλλοντικοί τοξικοί παράγοντες και η επίδρασή τους στο ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα (Jenardhanan P, Panneerselvam M, Mathur PP. Effect of environmental contaminants on spermatogenesis. Semin Cell Dev Biol. 2016 Nov;59:126-140)

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7 ΣΥΝΟΨΗ

Κατά τη διάρκεια όλων των σταδίων της ζωής του ανθρώπου ξεκινώντας από την εμβρυική ζωή, νεογνική και παιδική ηλικία καθώς και μετέπειτα στην ενήλικη ζωή, πολλοί παράγοντες ενδογενείς ή εξωγενείς, κληρονομικοί ή επίκτητοι που είτε έχουν άμεση σχέση με τον τρόπο ζωής του σύγχρονου ανθρώπου και τις ασχολίες του, είτε και με το περιβάλλον που ζει και εργάζεται, δυνητικά μπορεί να επιδράσουν σε διάφορο χρόνο και διάφορες ανατομικές περιοχές του ανδρικού γεννητικού συστήματος, σε όλη την πορεία της δημιουργίας των σπερματοζωαρίων. Διαταράσσεται με αυτόν τον τρόπο η σπερματογένεση και παρεμποδίζεται η σωστή δομική και λειτουργική ανάπτυξη των σπερματοζωαρίων και κατ' επέκταση η ποιότητα και οι παράμετροι του σπέρματος.

Η μεγάλη αύξηση της βιομηχανίας και ο εκμοντερνισμός τον τελευταίο αιώνα εισήγαγε μια πληθώρα συνθετικών συστατικών στο περιβάλλον όπως οι φθαλικές ενώσεις, τα φυτοφάρμακα, οι ατμοσφαιρικοί ρύποι, οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες, τα προϊόντα απολύμανσης νερού, τα βαρέα μέταλλα, οι διοξίνες, η δισφαινόλη των οποίων η αλόγιστη χρήση τα μετέτρεψε σε μια συνεχή απειλή για την αναπαραγωγική λειτουργία. Η φθίνουσα πορεία στις βασικές παραμέτρους του σπέρματος είναι ένα αναμφισβήτητο γεγονός που καταγράφεται και αποδεικνύεται κατά τις τελευταίες δεκαετίες σε πολλές πληθυσμιακές μελέτες και συστηματικές έρευνες που διεξάγονται σε παγκόσμιο επίπεδο. Οι κλασσικές παράμετροι του σπέρματος σε ένα εργαστήριο, μεταξύ των οποίων η κινητικότητα και η μορφολογία είναι ένας σχετικά εύκολος τρόπος για μία πρώτη αδρή αξιολόγηση της ανδρικής γονιμότητας και μια καλή βάση για τη μεθόδευση της περαιτέρω διερεύνησής της. Η εκτίμηση της κινητικότητας και της μορφολογίας των σπερματοζωαρίων ενέχει δυσκολίες στις οποίες εκτός από τη σωστή μεθοδολογία βασικό ρόλο παίζει και η εμπειρία και η κρίση του παρατηρητή. Η χρησιμοποίηση αναλυτών που πολλές φορές προσφέρει μια μεγαλύτερη αντικειμενικότητα στη διενέργεια των αναλύσεων φαίνεται ότι ειδικά στην εκτίμηση της μορφολογίας δεν ενδείκνυται. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO) με τις κατευθυντήριες οδηγίες, προσαρμοσμένες κάθε φορά στα δεδομένα της εποχής, προσπαθεί να βάλει πλαίσια και κανόνες, για τη σωστή εκτέλεση της εξέτασης του σπερμοδιαγράμματος και τη δυνητική σύγκριση των διαφόρων αποτελεσμάτων, που είναι απαραίτητη για την εκτίμηση της γονιμότητας, τόσο του κάθε ατόμου χωριστά όσο και των ομάδων, για τη σωστή και εμπεριστατωμένη εξαγωγή συμπερασμάτων στις διάφορες μελέτες.



Για τις τοξικές περιβαλλοντικές ενώσεις που μελετήθηκαν στην παρούσα πτυχιακή εργασία αποδεικνύεται *in vitro* αλλά και *in vivo* σε πειραματόζωα ότι οι περιβαλλοντικοί παράγοντες, ειδικά σε μεγάλες ποσότητες, επηρεάζουν την κινητικότητα και τη μορφολογία του σπέρματος. Μεγάλη ετερογένεια, εντούτοις, υπάρχει στις μελέτες στον ανθρώπινο πληθυσμό και ειδικά στην έκθεση σε μικρότερες συγκεντρώσεις τοξικών ουσιών που καθημερινά υπάρχουν στο περιβάλλον. Έτσι, όσον αφορά τον άνθρωπο, για τη δυσφαινόλη Α φαίνεται ότι για έκθεση σε μέτριες έως χαμηλές ποσότητες η κινητικότητα μάλλον επηρεάζεται αρνητικά ενώ για τη μορφολογία δεν υπάρχουν επαρκείς ενδείξεις. Αντίστοιχα για την έκθεση στις φθαλικές ενώσεις στις εργασίες με υπογόνιμους άνδρες έχουμε μειωμένη κινητικότητα ενώ σε μελέτες με ομάδες γόνιμων ανδρών τα αποτελέσματα είναι ετερογενή χωρίς σαφείς συσχετίσεις. Ακολούθως, στην έκθεση στα προϊόντα απολύμανσης του νερού δεν έχει βρεθεί αρνητικός επηρεασμός της κινητικότητας παρά μόνο στο βρωμοχλωρομεθάνιο, ενώ για τη μορφολογία οι εργασίες είναι πολύ λίγες και δεν ενάγεται κανένα συμπέρασμα. Οι περισσότερες όμως μελέτες που αναφέρονται σε φυτοφάρμακα στις συνήθεις συγκεντρώσεις που καθημερινά υπάρχουν στο περιβάλλον, αποδεικνύουν ότι οι τοξικές αυτές ουσίες επηρεάζουν αρνητικά την κινητικότητα και την καλή μορφολογία του ανθρώπινου σπέρματος ενώ αυτές για τους ατμοσφαιρικούς ρύπους, εντός των επιτρεπόμενων ορίων, αναφέρουν σαφή επηρεασμό της μορφολογίας. Κάποιοι πολυμορφισμοί γονιδίων (όπως GSTM1, GSTT1 και CYP) αναφέρεται ότι εντείνουν τον επηρεασμό της καλής μορφολογίας και ποιότητας των σπερματοζωαρίων γιατί αυτά τα γονίδια ορίζουν τη δημιουργία και έκφραση πρωτεϊνών απαραίτητων για το μεταβολισμό αρκετών τοξικών ουσιών όπως των φυτοφαρμάκων. Εργασίες επίσης υποστηρίζουν ότι η κατανάλωση φρούτων και λαχανικών με μικρή έως μέτρια ποσότητα φυτοφαρμάκων μάλλον είναι ευνοϊκός παράγοντας στη μορφολογία γιατί η τοξική τους δράση αντισταθμίζεται από τα οφέλη της κατανάλωσης των αντιοξειδωτικών ουσιών που περιέχονται στις τροφές αυτές. Αίτια αυτής της ετερογένειας των συμπερασμάτων στις μελέτες που αφορούν την επίδραση των περιβαλλοντικών παραγόντων στην κινητικότητα και μορφολογία του σπέρματος είναι η φαρμακοκινητική και ο τρόπος μέτρηση των τοξικών ουσιών, η βιοδιαθεσιμότητά τους, η ποικιλότητα και το πλήθος των μεταβολιτών τους, οι πιθανές συνέργειες μεταξύ τους καθώς και οι ιδιαιτερότητες που διέπουν τις μελέτες που αφορούν το σπέρμα. Επίσης η επιλογή των σωστών ομάδων μελέτης αλλά και η συνεκτίμηση όλων των παραγόντων που συνυπάρχουν και δυνητικά μπορεί να επηρεάσουν την ποιότητα του σπέρματος είναι παράγοντες που πρέπει να ληφθούν υπ' όψιν. Σε ορισμένες πάλι περιπτώσεις μεσολαβεί ένα σημαντικό χρονικό διάστημα από την έκθεση έως την εμφάνιση των συμπτωμάτων κάνοντας τη μελέτη

της δράσης των περιβαλλοντικών παραγόντων ιδιαίτερα δύσκολη. Η αξιολόγηση εκθέσεων του παρελθόντος σε περιβαλλοντικούς ρύπους αποτελεί συνήθως μια αδυναμία των επιδημιολογικών μελετών.

Ένας άλλος θέμα είναι ότι οι περισσότερες μελέτες είναι επιπολασμού και εκλείπουν οι προοπτικές που θα οδηγούσαν σε ασφαλέστερα συμπεράσματα.

Οι περιβαλλοντικοί τοξικοί παράγοντες δρουν με πολλαπλούς μηχανισμούς και μέσω ποκίλων μονοπατιών που πολλές φορές το ένα συναντά και επηρεάζει το άλλο. Εισέρχονται στον ανθρώπινο οργανισμό με την κατάποση, την εισπνοή και τη διαδερμική απορρόφηση ενώ συνήθως οι μεταβολίτες τους απεκκρίνονται με τα ούρα. Λειτουργούν ως ενδοκρινικοί διαταράκτες δεσμευόμενοι σε υποδοχείς ορμονών, επηρεάζοντας τον υποθάλαμο, την υπόφυση, την FSH, την LH, την τεστοστερόνη αλλά και απευθείας στον ορχικό ιστό, στα κύτταρά του και στους βιοχημικούς κύκλους του. Το οξειδωτικό στρες είναι ένας βασικός μηχανισμός μέσω του οποίου οι περιβαλλοντικοί παράγοντες βλάπτουν την κινητικότητα και τη μορφολογία των σπερματοζωαρίων. Επηρεάζει τη μεμβράνη του σπερματοζωαρίου, το DNA του πυρήνα του, το μιτοχονδριακό DNA αλλά και την απόπτωση. Επίσης Οι επιγενετικοί μηχανισμοί έχουν συσχετιστεί με έκθεση σε περιβαλλοντικούς ρύπους. Η μεθυλίωση του DNA μπορεί να επηρεάσει το σπέρμα κατά τη διάρκεια της παραγωγής του στους όρχεις ή κατά την ωρίμανση των σπερματοζωαρίων στην επιδιδυμίδα. Πολλές φορές όμως σε αυτές τις περιπτώσεις οι κλασσικές παράμετροι του σπέρματος όπως η μορφολογία και η κινητικότητα δεν επηρεάζονται και μια απλή ανάλυση σπέρματος δεν είναι αρκετή.

Είναι ολοφάνερο, λοιπόν, ότι περισσότερα δεδομένα χρειάζονται για να τεκμηριωθεί εμπειριστατωμένα η επίδραση των περιβαλλοντικών παραγόντων και ιδιαιτέρως η έκθεση σε χαμηλές δόσεις, από τις οποίες καθημερινά βάλλεται ο άνθρωπος, στην κινητικότητα, στη μορφολογία αλλά και γενικότερα στην ποιότητα του σπέρματος.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. E. Carlsen, A. Giwercman, N. Keiding, N.E. Skakkebaek Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years *BMJ*, 305 (1992), pp. 609-613
2. S. H. Swan, E.P. Elkin, L. Fenster The question of declining sperm density revisited: an analysis of 101 studies published 1934–1996 *Environ. Health Perspect.*, 108 (2000), pp. 961-966
3. C. Geoffroy, A.D. Loundou, F. Romain, V. Achard, B. Courbiere, M. Perrard, P. Durand, M. Guichaoua Decline of semen quality among 10 932 males consulting for couple infertility over a 20-year period in Marseille, France *Asian J. Androl.*, 14 (2012), pp. 584-590
4. R. Shine, J. Peek, M. Birdsall Declining sperm quality in New Zealand over 20 years *N.Z. Med. J.*, 121 (2008), pp. 50-56
5. M.S. Dama, S. Rajender Secular changes in the semen quality in India during the past 33 years *J. Androl.*, 33 (2012), pp. 740-744
6. N.C. Feki, N. Abid, A. Rebai, A. Sellami, B.B. Ayed, M. Guermazi, A. Bahloul, T. Rebai, L.K. Ammar Semen quality decline among men in infertile relationships: experience over 12 years in the South of Tunisia *J. Androl.*, 30 (2009), pp. 541-547
7. R. Haimov-Kochman, R. Har-Nir, E. Ein-Mor, V. Ben-Shoshan, C. Greenfield, I. Eldar, Y. Bdolah, A. Hurwitz Is the quality of donated semen deteriorating? Findings from a 15-year longitudinal analysis of weekly sperm samples *Isr. Med. Assoc. J.*, 14 (2012), pp. 372-377
8. Auger J, Kunstmann JM, Czyglik F, Jouannet Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years. *N Engl J Med.* 1995 Feb 2;332(5):281-5.
9. N. Jørgensen, A.G. Andersen, F. Eustache, D.S. Irvine, J. Suominen, J.H. Petersen, A. N. Andersen, J. Auger, E.H. Cawood, A. Horte, T.K. Jensen, P. Jouannet, N. Keiding, M. Vierula, J. Toppari, N.E. Skakkebaek Regional differences in semen quality in Europe *Hum. Reprod.*, 16 (2001), pp. 1012-1019
10. Filipe Tenorio Lira Neto, Phil Vu Bach, Bobby B. Najari, Philip S. Li, Marc Goldstein Spermatogenesis in humans and its affecting factors *Seminars in Cell & Developmental Biology*, Volume 59, November 2016, pp. 10-26
11. O'Donnell L<sup>1</sup> Mechanisms of spermiogenesis and spermiation and how they are disturbed. *Spermatogenesis.* 2015 Jan 26;4(2):e979623. eCollection 2014 May-Aug.

12. P.Mital, B.T. Hinton, J.M. Dufour The blood-testis and blood-epididymis barriers are more than just their tight junctions *Biol. Reprod.*, 84 (2011), pp. 851-858  
Jenardhanan P, Panneerselvam M, Mathur PP.Effect of environmental contaminants on spermatogenesis. *Semin Cell Dev Biol.* 2016 Nov;59:126-140
13. Y. Hai, J. Hou, Y. Liu, Y. Liu, H. Yang, Z. Li, *et al.* The roles and regulation of Sertoli cells in fate determinations of spermatogonial stem cells and spermatogenesis *Semin. Cell Dev. Biol.*, 29 (2014), pp. 66-75
14. WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. 5<sup>th</sup> ed.World Health Organization, 2010
15. WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen and Sperm-Cervical Mucus Interaction. 4<sup>th</sup> ed.World Health Organization, 1999
16. Sharma *et al.* Effects of increased paternal age on sperm quality, reproductive outcome and associated epigenetic risks to offspring. *Reproductive Biology and Endocrinology* (2015) 13:35
- 17.Stone BA *et al.* Age thresholds for changes in semen parameters in men. *Fertil Steril.* 2013;100(4):952–8.
18. Hellstrom WJ *et al.* Semen and sperm reference range for men 45 years of age and older. *J Androl.* 2006;27(3):421–8.
19. Kidd, S. A., Eskenazi, B., Wyrobek, A.J., Effects of male age on semen quality and fertility: a review of the literature. *Fertility and Sterility.* 2001; 75(2):237-248.
20. Lewis SEM. Is sperm evaluation useful in predicting human fertility? *Reproduction* 2007, 134:31-40
21. Santi D, Magnani E, Michelangeli M, *et al.* Seasonal variation of semen parameters correlates with environmental temperature and air pollution : A big data analysis over 6 years *Environ Pollut.* 2018 Apr;235:806-813
22. Andolz P<sup>1</sup>, Bielsa MA, Andolz A Circannual variation in human semen parameters. *Int J Androl.* 2001 Oct;24(5):266-71.
23. Sobreiro BP, Lucon AM, Pasqualotto FF, Hallak J, Athayde KS, Arap S. Semen analysis in fertile patients undergoing vasectomy: reference values and variations according to age, length of sexual abstinence, seasonality, smoking habits and caffeine intake. *Sao Paulo Med J.* 2005 Jul 7;123(4):161-6
24. Ross C, Morriss A, Khairy M, Khalaf Y, Braude P, Coomarasamy A, El-Toukhy T. A systematic review of the effect of oral antioxidants on male infertility. *Reprod Biomed Online* 2010;20:711–723
25. Audrey J. Gaskins, Daniela S. Colaci, Jaime Mendiola, Shanna H.Swan, and Jorge E. Chavarro. Dietary patterns and semen quality in young men *Hum. Reprod.* des298 first published online August 11, 2012

26. A.O. Hammoud, N. Wilde, M. Gibson, A. Parks, D.T. Carrell, A.W. Meikle. Male obesity and alteration in sperm parameters *Fertil. Steril.*, 90 (2008), pp. 2222-2225
27. E.R. Hofny, M.E. Ali, H.Z. Abdel-Hafez, D. KamaEel, E.E. Mohamed, H.G. Abd El-Azeem, *et al.* Semen parameters and hormonal profile in obese fertile and infertile males *Fertil. Steril.*, 94 (2010), pp. 581-584
28. Maneesh M, Dutta S, Chakrabarti A, Vasudevan DM. Alcohol abuse-duration dependent decrease in plasma testosterone and antioxidants in males. *Indian J Physiol Pharmacol.* 2006 Jul-Sep;50(3):291-6.
29. Gaur DS, Talekar MS, Pathak VP. Alcohol intake and cigarette smoking: impact of two major lifestyle factors on male fertility. *Indian J Pathol Microbiol.* 2010 Jan-Mar;53(1):35-40
30. Vaamonde D, Da Silva-Grigoletto ME, Garcia-Manso JM, Vaamonde-Lemos R, Swanson RJ, Oehninger SC. Response of semen parameters to three training modalities. *Fertil Steril.* 2009;92:1941–1946
31. Jensen CE, Wiswedel K, McLoughlin J, van der Spuy Z. Prospective study of hormonal and semen profiles in marathon runners. *Fertil Steril.* 1995 Dec;64(6):1189-96
32. Wise LA, Cramer DW, Hornstein MD, Ashby RK, Missmer SA. Physical activity and semen quality among men attending an infertility clinic. *Fertil Steril.* 2011;95:1025–1030
33. Adams JA, Galloway TS, Mondal D, Esteves SC, Mathews F. Effect of mobile telephones on sperm quality: a systematic review and meta-analysis. *Environ Int.* 2014 Sep;70:106-12.
34. Mitra A, Chakraborty B, Mukhopadhyay D, Pal M, Mukherjee S, Banerjee S, Chaudhuri K. Effect of smoking on semen quality, FSH, testosterone level, and CAG repeat length in androgen receptor gene of infertile men in an Indian city. *Syst Biol Reprod Med.* 2012;58:255–262
35. Calogero A, Polosa R, Perdichizzi A, Guarino F, La Vignera S, Scarfia A, Fratantonio E, Condorelli R, Bonanno O, Barone N. *et al.* Cigarette smoke extract immobilizes human spermatozoa and induces sperm apoptosis. *Reprod Biomed Online.* 2009;19:564–571
36. Gaur DS, Talekar MS, Pathak VP. Alcohol intake and cigarette smoking: Impact of two major lifestyle factors on male fertility. *Indian J Pathol Microbiol.* 2010;53:35–40.

37. Battista N, Pasquariello N, Di Tommaso M, Maccarrone M. Interplay between endocannabinoids, steroids and cytokines in the control of human reproduction. *J Neuroendocrinol.* 2008;20(Suppl 1):82–89
38. Ragni G, de Lauretis L, Bestetti O, Sghedoni D, Aro VGA. Gonadal function in male heroin and methadone addicts. *Int J Androl.* 1988;
39. Torres-Calleja J, González-Unzaga M, DeCelis-Carrillo R, Calzada-Sánchez L, Pedrón N.  
Effect of androgenic anabolicsteroids on sperm quality and serum hormone levels in adult malebodybuilders. *Life Sci.* 2001 Mar 2;68(15):1769-74.
40. Hauser R. The environment and male fertility: recent research on emerging chemicals and semen quality. *Semin Reprod Med.* 2006 Jul;24(3):156-67
41. Vandenberg LN, Hauser R, Marcus M, Olea N, Welshons WV. Human exposure to bisphenol A (BPA) *Reproductive toxicology* (Elmsford, NY) 2007;24:139–77.
42. Calafat AM, Ye X, Wong LY, Reidy JA, Needham LL. Exposure of the U.S. population to bisphenol A and 4-tertiary-octylphenol: 2003–2004. *Environmental health perspectives.* 2008;116:39–44// CDC CfDCaP.
43. Fourth Report on Human Exposure to Environmental Chemicals, Updated Tables (February, 2015) Atlanta, GA, USA: Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention; 2015
44. L.N. Vandenberg, I. Chahoud, J.J. Heindel, V. Padmanabhan, F.J. Paumgarten, G. Schoenfelder Urinary, circulating, and tissue biomonitoring studies indicate widespread exposure to bisphenol A *Environ. Health Perspect.*, 2010 Aug;118(8):1055-70
45. W.V. Welshons, S.C. Nagel, F.S. vom Saal Large effects from small exposures. III. Endocrine mechanisms mediating effects of bisphenol A at levels of human exposure *Endocrinology*, 147 (6 Suppl) (2006), pp. S56-S69
46. Dobrzynska MM, Radzikowska J. Genotoxicity and reproductive toxicity of bisphenol A and X-ray/bisphenol A combination in male mice. *Drug and chemical toxicology.* 2013;36:19–26.
47. Tainaka H, Takahashi H, Umezawa M, Tanaka H, Nishimune Y, Oshio S, et al. Evaluation of the testicular toxicity of prenatal exposure to bisphenol A based on microarray analysis combined with MeSH annotation. *The Journal of toxicological sciences.* 2012;37:539–48.
48. Tiwari D, Vanage G. Mutagenic effect of Bisphenol A on adult rat male germ cells and their fertility. *Reproductive toxicology* (Elmsford, NY) 2013;40:60–8.

49. Salian S, Doshi T, Vanage G. Neonatal exposure of male rats to Bisphenol A impairs fertility and expression of sertoli cell junctional proteins in the testis. *Toxicology*. 2009;265:56–67.
50. Qiu LL, Wang X, Zhang XH, Zhang Z, Gu J, Liu L, et al. Decreased androgen receptor expression may contribute to spermatogenesis failure in rats exposed to low concentration of bisphenol A. *Toxicology letters*. 2013;219:116–24.
51. Minamiyama Y, Ichikawa H, Takemura S, Kusunoki H, Naito Y, Yoshikawa T. Generation of reactive oxygen species in sperms of rats as an earlier marker for evaluating the toxicity of endocrine-disrupting chemicals. *Free radical research*. 2010;44:1398–406.
52. Howdeshell KL, Furr J, Lambright CR, Wilson VS, Ryan BC, Gray LE., Jr Gestational and lactational exposure to ethinyl estradiol, but not bisphenol A, decreases androgen-dependent reproductive organ weights and epididymal sperm abundance in the male long evans hooded rat. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology*. 2008;102:371–82.
53. Kobayashi K, Ohtani K, Kubota H, Miyagawa M. Dietary exposure to low doses of bisphenol A: effects on reproduction and development in two generations of C57BL/6J mice. *Congenital anomalies*. 2010;50:159–70.
54. La Rocca J, Boyajian A, Brown C, Smith SD, Hixon M. Effects of in utero exposure to Bisphenol A or diethylstilbestrol on the adult male reproductive system. *Birth defects research Part B, Developmental and reproductive toxicology*. 2011;92:526–33.
55. Tyl RW, Myers CB, Marr MC, Sloan CS, Castillo NP, Veselica MM, et al. Two-generation reproductive toxicity study of dietary bisphenol A in CD-1 (Swiss) mice. *Toxicological sciences: an official journal of the Society of Toxicology*. 2008;104:362–84.
56. Li DK, Zhou Z, Miao M, He Y, Wang J, Ferber J, et al. Urine bisphenol-A (BPA) level in relation to semen quality. *Fertility and sterility*. 2011;95:625–30.
57. Lassen TH, Frederiksen H, Jensen TK, Petersen JH, Joensen UN, Main KM, et al. Urinary bisphenol A levels in young men: association with reproductive hormones and semen quality. *Environmental health perspectives*. 2014;122:478–84
58. Meeker, J.D., Ehrlich, S., Toth, T.L., Wright, D.L., Calafat, A.M., Trisini, A.T. et al. Semen quality and sperm DNA damage in relation to urinary A bisphenol among men from an infertility clinic. *Reprod Toxicol*. 2010; 30: 532–539
59. Mendiola J, Jorgensen N, Andersson AM, Calafat AM, Ye X, Redmon JB, et al. Are environmental levels of bisphenol a associated with reproductive function in fertile men? *Environmental health perspectives*. 2010;118:1286–91
60. Goldstone AE, Chen Z, Perry MJ, Kannan K, Louis GM. Urinary bisphenol A and semen quality, the LIFE Study. *Reproductive toxicology (Elmsford, NY)* 2015;51:7–13.

61. CPI, 2014. European Council for Plasticisers and Intermediates. (<http://www.plasticisers.org/other/faq>) (accessed 22.12.14).
62. Rastogi SK. Phthalate exposure and health outcomes. *Indian J Occup Environ Med* 2006;10:111–5
63. Wittassek M, Wiesmüller GA, Koch HM, Eckard R, Dobler L, Müller J, et al. Internal phthalate exposure over the last two decades - a retrospective human biomonitoring study. *Int J Hyg Environ Health* 2007;210(3–4):319–33.
64. Hauser R, Skakkebaek N.E, Hass U, Toppari J, Juul A.M, Andersson, *et al.* Male reproductive disorders, diseases, and costs of exposure to endocrine-disrupting chemicals in the European Union. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 100 (2015), pp. 1267-1277
65. Duty SM, Silva MJ, Barr DB, Brock JW, Ryan L, Chen Z, et al. Phthalate Exposure and Human Semen Parameters. *Epidemiol* 2003;14:269–77
66. Hauser R, Meeker JD, Duty S, Silva MJ, Calafat AM. Altered Semen Quality in Relation to Urinary Concentrations of Phthalate Monoester and Oxidative Metabolites. *Epidemiol* 2006;17:682–91.
67. Wirth JJ, Rossano MG, Potter R, Puscheck E, Daly DC, Paneth N, et al. A pilot study associating urinary concentrations of phthalate metabolites and semen quality. *Sys Biol Reprod Med* 2008;54(3):143–54.
68. Pant N, Shukla M, Patel KD, Shukla Y, Mathur N, Gupta YK, et al. Correlation of phthalate exposures with semen quality. *Toxicol Appl Pharmacology* 2008;231:112–6.
69. Pant N, Kumar G, Upadhyay AD, Patel DK, Gupta YK & Chaturvedi PK. (2014) Reproductive toxicity of lead, cadmium, and phthalate exposure in men. *Environ Sci Pollut Res Int* 21, 11066–11074.
70. Jurewicz J, Radwan M, Sobala W, Ligocka D, Radwan P, Bochenek M, Hawuła W, Jakubowski L & Hanke W. (2013) Human urinary phthalate metabolites level and main semen parameters, sperm chromatin structure, sperm aneuploidy and reproductive hormones. *Reprod Toxicol* 42, 232–241
71. Jönsson BAG, Richthoff J, Rylander L, Giwercman A, Lars H. Urinary phthalate metabolites and biomarkers of reproductive function in young men. *Epidemiol* 2005;6(4):487–93
72. Bloom MS, Whitcomb BW, Chen Z, Ye A, Kannan K & Louis GB. (2015) Associations between urinary phthalate concentrations and semen quality parameters in a general population. *Human Reproduction* in press
73. Han X, Cui Z, Zhou N, Ma M, Li L, Li Y, Lin H, Ao L, Shu W, Liu J & Cao J. (2014) Urinary phthalate metabolites and male reproductive function parameters in Chongqing general population, China. *Int J Hyg Environ Health* 217, 271–278



74. Lenters V, Portengen L, Smit LA, J€onsson BA, Giwercman A, Rylander L, Lindh CH, Spano M, Pedersen HS, Ludwicki JK, Chumak L, Piersma AH, Toft G, Bonde JP, Heederik D & Vermeulen R. (2015) Phthalates, perfluoroalkyl acids, metals and organochlorines and reproductive function: a multipollutant assessment in Greenlandic, Polish and Ukrainian men. *Occup Environ Med* 72, 385–393
75. Specht IO, Toft G, Hougaard KS, Lindh CH, Lenters V, J€onsson BA, Heederik D, Giwercman A & Bonde JP. (2014) Associations between serum phthalates and biomarkers of reproductive function in 589 adult men. *Environ Int* 66, 146–156.
76. Cai H, Zheng W, Zheng P, Wang S, Tan H, He G & Qu W. (2015) Human urinary/seminal phthalates or their metabolite levels and semen quality: a meta-analysis. *Environ Res* 142, 486–494.
77. J.L. Preau Jr., L.Y. Wong, M.J. Silva, L.L. Needham, A.M. Calafat Variability over 1 week in the urinary concentrations of metabolites of diethyl phthalate and di(2-ethylhexyl) phthalate among eight adults: an observational study *Environ. Health Perspect.*, 118 (2010), pp. 1748-1754
78. Anifandis G, Amiridis G, Dafopoulos K, Daponte A, Dovolou E, Gavriil E, Gorgogietas V, Kachpani E, Mamuris Z, Messini CI, Vassiou K, Psarra AG. The In Vitro Impact of the Herbicide Roundup on Human Sperm Motility and Sperm Mitochondria. *Toxics*. 2017 Dec 21;6(1).
79. Anifandis G, Katsanaki K, Lagodonti G, Messini C, Simopoulou M, Dafopoulos K, Daponte A. The Effect of Glyphosate on Human Sperm Motility and Sperm DNA Fragmentation. *Int J Environ Res Public Health*. 2018 May 30;15(6).
80. Martenies SE<sup>1</sup>, Perry MJ. Environmental and occupational pesticide exposure and human sperm parameters: a systematic review. *Toxicology*. 2013 May 10;307:66-73.
81. G. Ji, Y. Xia, A. Gu, X. Shi, Y. Long, L. Song, S. Wang, X. Wang Effects of non-occupational environmental exposure to pyrethroids on semen quality and sperm DNA integrity in Chinese men *Reprod. Toxicol.*, 31 (2011), pp. 171-176
82. J.D. Meeker, D.B. Barr, R. Hauser Pyrethroid insecticide metabolites are associated with serum hormone levels in adult men *Reprod. Toxicol.*, 27 (2009), pp. 155-160
83. Y. Xia, Y. Han, B. Wu, S. Wang, A. Gu, N. Lu, J. Bo, L. Song, N. Jin, X. Wang The relation between urinary metabolite of pyrethroid insecticides and semen quality in humans *Fertil. Steril.*, 89 (2008), pp. 1743-1750
84. N. Aneck-Hahn, G.W. Schulenburg, M.S. Bornman, P. Farias, C. de Jager Impaired semen quality associated with environmental DDT exposure in young men living in a malaria area in the Limpopo Province, South Africa *J. Androl.*, 28 (2007), pp. 423-434
85. B.M. Messaros, M.G. Rossano, G. Liu, M.P. Diamond, K. Friderici, K. Nummy Jernigan, D. Daly, E. Puscheck, N. Paneth, J.J. Wirth Negative effects of serum p,p'-DDE

on sperm parameters and modification by genetic polymorphisms *Environ. Res.*, 109 (2009), pp. 457-464

86. N. Pant, R. Kumar, N. Mathur, S.P. Srivastava, D.K. Saxena, V.R. Gujrati Chlorinated pesticide concentration in semen of fertile and infertile men and correlation with sperm quality *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 23 (2007), pp. 135-139

87. F.H. Khan, P. Ganesan, S. Kumar Y chromosome microdeletion and altered sperm quality in human males with high concentration of seminal hexachlorocyclohexane (HCH) *Chemosphere*, 80 (2010), pp. 972-977

88. De Jager C, Farias P, Barraza-Villarreal A, Avila MH, Ayotte P, Dewailly E, Dombrowski C, Rousseau F, Sanchez VD, Bailey JL. Reduced seminal parameters associated with environmental DDT exposure and p,p'-DDE concentrations in men in Chiapas, Mexico: a cross-sectional study *J Androl.* 2006 Jan-Feb;27(1):16-27

89. Toft G<sup>1</sup>, Rignell-Hydbom A, Tyrkiel E, Shvets M, Giwercman A, Lindh CH, Pedersen HS, Ludwicki JK, Lesovoy V, Hagmar L, Spanó M, Manicardi GC, Bonefeld-Jorgensen EC, Thulstrup AM, Bonde JP Semen quality and exposure to persistent organochlorine pollutants. *Epidemiology.* 2006 Jul;17(4):450-8.

90. C. Celik Ozenci, A. Tasatargil, M. Tekcan et al. Effects of abamectin exposure on male fertility in rats: potential role of oxidative stress-mediated poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) activation *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 61 (2011), pp. 310-317

91. G. DeFleurian, J. Perrin, R. Ecochard et al. exposures obtained by questionnaire in clinical practice and their association with semen quality *J. Androl.*, 30 (2009), pp. 566-579

92. Chiu YH, Gaskins AJ, Williams PL, Mendiola J, Jørgensen N, Levine H, Hauser R, Swan SH, Chavarro JE Intake of Fruits and Vegetables with Low-to-Moderate Pesticide Residues Is Positively Associated with Semen-Quality Parameters among Young Healthy Men. *J Nutr.* 2016 May;146(5):1084-92

93. Chiu YH, Afeiche MC, Gaskins AJ, Williams PL, Petrozza JC, Tanrikut C, Hauser R, Chavarro JE. Fruit and vegetable intake and their pesticide residues in relation to semen quality among men from a fertility clinic. *Hum Reprod* 2015;30:1342–51

94. Richthoff J, Rylander L, Jönsson BAG, Akesson H, Hagmar L, Nilsson-Ehle P, et al. Serum levels of 2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl (CB-153) in relation to markers of reproductive function in young males from the general Swedish population. *Environ Health Perspect* 2003;111(4):409–13.

95. Graves CG, Matanoski GM, Tardiff RG. Weight of evidence for an association between adverse reproductive and developmental effects and exposure to disinfection by-products: A critical review. *Regul Toxicol Pharmacol* 2001;34:103–24
96. Linder RE, Klinefelter GR, Strader LF, Narotsky MG, Suarez JD, Roberts NL, et al. Dibromoacetic acid affects reproductive competence and sperm quality in male-rat. *Fundam Appl Toxicol* 1995;28(1):9–17.
97. Linder RE, Klinefelter GR, Strader LF, Suarez JD, Roberts NL. Spermatotoxicity of dichloroacetic acid. *Reprod Toxicol* 1997a;11(5):681–8.
98. Linder RE, Klinefelter GR, Strader LF, Veeramachaneni DNR, Roberts NL, Suarez JD. Histopathologic changes in the testes of rats exposed to dibromoacetic acid. *Reprod Toxicol* 1997b;11(1):47–56
99. Luft JC, Garges JB, Rockett JR, Dix DJ. Male reproductive toxicity of bromochloroacetic acid in mice. *Biol Reprod* 2000;62(1):246–47..
100. Christian MS, York RG, Hoberman AM, Frazee J, Fisher LC, Brown WR, et al. Oral (drinking water) two-generation reproductive toxicity study of dibromoacetic acid (DBA) in rats. *Int J Toxicol* 2002;21(4):237–76
101. Luben T, Olshan AF, Herring AH, Jeffay S, Strader L, Buus RM, et al. The healthy men study: an evaluation of exposure to disinfection by-products in tap water and sperm quality. *Environ Health Persp* 2007;115(8):1169–76.
102. Fenster L, Waller K, Windham G, Henneman T, Anderson M, Mendola P, et al. Trihalomethane levels in home tap water and semen quality. *Epidemiology* 2003;14(6):650–8.
103. Zeng Q, Chen YZ, Xu L, Chen HX, Luo Y, Li M, Yue J, Liu AL, Li YF, Lu WQ. Evaluation of exposure to trihalomethanes in tap water and semen quality: a prospective study in Wuhan, China. *Reprod Toxicol*. 2014 Jul;46:56–63.
104. Iszatt N, Nieuwenhuijsen MJ, Bennett J, Best N, Povey AC, Pacey AA, Moore H, Cherry N, Toledano MB Chlorination by-products in tap water and semen quality in England and Wales. *Occup Environ Med*. 2013 Nov;70(11):754–60.
105. Fenster L, Waller K, Windham G, Henneman T, Anderson M, Mendola P, Overstreet JW, Swan SH. Trihalomethane levels in home tap water and semen quality. *Epidemiology*. 2003 Nov;14(6):650–8.
106. Zeng Q, Li M, Xie SH, Gu LJ, Yue J, Cao WC, Zheng D, Liu AL, Li YF, Lu WQ Baseline blood trihalomethanes, semen parameters and serum total testosterone: a cross-sectional study in China. *Environ Int*. 2013 Apr;54:134–40.
107. Brunekreef, B. and Holgate, S. Air pollution and health. *Lancet*. 2002; 360: 1233–1242

108. Beelen, R., Stafoggia, M., Raaschou-Nielsen, O., Andersen, Z., Xun, W., Katsouyanni, K. et al. Long-term exposure to air pollution and cardiovascular mortality. *Epidemiology*. 2014; 25: 368–378
109. Sava, F. and Carlsten, C. Respiratory health effects of ambient air pollution. *Clin Chest Med*. 2012;33: 759–769
110. Yorifuji, T., Kashima, S., Higa Diez, M., Kado, Y., Sanada, S., and Doi, H. Prenatal exposure to traffic-related air pollution and child behavioral development milestone delays in Japan. *Epidemiology*. 2016;27: 57–65
111. Loomis, D., Grosse, Y., Lauby-Secretan, B., Ghissassi, F., Bouvard, V., Benbrahim-Tallaa, L. et al. The carcinogenicity of outdoor air pollution. *Lancet Oncol*. 2013; 14: 1262–1263
112. Chen, Q., Hong, X., Song, Y., Sun, Q., and Wang, J. Effects of diesel exhaust particles on the quality of mouse sperm. *Chin J Androl*. 2009; 23: 22–25
113. Ema, M., Naya, M., Horimoto, M., and Kato, H. Developmental toxicity of diesel exhaust: a review of studies in experimental animals. *Reprod Toxicol*. 2013; 42: 1–17
114. Jedlińska-Krakowska, M., Gizejewski, Z., Dietrich, G.J., Jakubowski, K., Glogowski, J., and Penkowski, A. The effect of increased ozone concentrations in the air on selected aspects of rat reproduction. *Pol J Vet Sci*. 2006; 9: 11–16
115. Zorn, B., Golob, B., Ihan, A., Kopitar, A., and Kolbezen, M. Apoptotic sperm biomarkers and their correlation with conventional sperm parameters and male fertility potential. *J Assist Reprod Genet*. 2012; 29: 357–364
116. Calogero, A.E., La Vignera, S., Condorelli, R.A., Perdichizzi, A., Valenti, D., Asero, P. et al. Environmental car exhaust pollution damages human sperm chromatin and DNA. *J Endocrinol Invest*. 2011; 34: e139–e143 39
117. Rubes, J., Selevan, S.G., Evenson, D.P., Zudova, D., Vozdova, M., Zudova, Z. et al. Episodic air pollution is associated with increased DNA fragmentation in human sperm without other changes in semen quality. *Hum Reprod*. 2005; 20: 2776–2783
118. Hammoud, A., Carrell, D., Gibson, M., Sanderson, M., Parker-Jones, K., and Peterson, C. Decreased sperm motility is associated with air pollution in Salt Lake City. *Fertil Steril*. 2010; 93: 1875–1879
119. Sokol, R., Kraft, P., Fowler, I., Mamet, R., Kim, E., and Berhane, K. Exposure to environmental ozone alters semen quality. *Environ Health Perspect*. 2005; 114: 360–365
120. Agarwal, A., Saleh, R.A., and Bedaiwy, M.A. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Steril*. 2003; 79: 829–843
121. Aitken, J. and Fisher, H. Reactive oxygen species generation and human spermatozoa: the balance of benefit and risk. *Bioessay*. 2004; 16: 259–267

122. Guven, A., Kayikci, A., Cam, K., Arbak, P., Balbay, O., and Cam, M. Alterations in semen parameters of toll collectors working at motorways: does diesel exposure induce detrimental effects on semen?. *Andrologia*. 2008; 40: 346–351
123. Selevan SG, Borkovec L, Slott VL, Zudová Z, Rubes J, Evenson DP, Perreault SD. Semen quality and reproductive health of young Czech men exposed to seasonal air pollution. *Environ Health Perspect*. 2000 Sep;108(9):887-94
124. Phillips, K.P. and Tanphaichitr, N. Human exposure to endocrine disrupters and semen quality. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev*. 2008; 11: 188–220.
125. Rubes, J., Selevan, S.G., Evenson, D.P., Zudova, D., Vozdova, M., Zudova, Z. et al. Episodic air pollution is associated with increased DNA fragmentation in human sperm without other changes in semen quality. *Hum Reprod*. 2005; 20: 2776–2783
126. Zhou, N., Cui, Z., Yang, S., Han, X., Chen, G., Zhou, Z. et al. Air pollution and decreased semen quality: a comparative study of Chongqing urban and rural areas. *Environ Pollut*. 2014; 187: 145–152
127. De Rosa, M., Zarrilli, S., Paesano, L., Carbone, U., Boggia, B., Petretta, M. et al. Traffic pollutants affect fertility in men. *Hum Reprod*. 2003; 18: 1055–1061
128. Rubes, J., Selevan, S.G., Sram, R.J., Evenson, D.P., and Perreault, S.D. GSTM1 genotype influences the susceptibility of men to sperm DNA damage associated with exposure to air pollution. *Mutat Res*. 2007; 625: 20–28
129. Rubes, J., Rybar, R., Prinosilova, P., Veznik, Z., Chvatalova, I., Solansky, I. et al. Genetic polymorphisms influence the susceptibility of men to sperm DNA damage associated with exposure to air pollution. *Mutat Res*. 2010; 683: 9–15
130. Nobles CJ, Schisterman EF, Ha S, Kim K, Mumford SL, Buck Louis GM, Chen Z, Liu D, Sherman S, Mendola P Ambient air pollution and semen quality. *Environ Res*. 2018 May;163:228-236.
131. Lao XQ, Zhang Z, Lau AKH, Chan TC, Chuang YC, Chan J, Lin C, Guo C, Jiang WK, Tam T, Hoek G, Kan H, Yeoh EK, Chang LY Exposure to ambient fine particulate matter and semen quality in Taiwan. *Occup Environ Med*. 2018 Feb;75(2):148-154
132. EC, 1997. European Workshop on the Impact of Endocrine Disrupters in Human Health and the Environment. Environment and Climate Research Programme, DG XII, Report EUR 17549, 1997
133. Hueiwang Anna Jeng Exposure to Endocrine Disrupting Chemicals and Male Reproductive Health *Front Public Health*. 2014; 2: 55.
134. Agarwal A, Makker K, Sharma R. Clinical relevance of oxidative stress in male factor infertility: an update. *Am J Reprod Immunol*. 2008 Jan;59(1):2-11
135. Tremellen K. Oxidative stress and male infertility--a clinical perspective. *Hum Reprod Update*. 2008 May-Jun;14(3):243-58.

136. Saleh RA, Agarwal A. Oxidative stress and male infertility: from research bench to clinical practice. *J Androl.* 2002 Nov-Dec;23(6):737-52.
137. Λίνα Ευγενή, Γεώργιος Λυμπερόπουλος Η λειτουργία του ανδρικού σπέρματος, 2010 Οξειδωτικό στρες σελ 177-212
138. Zini A, Libman J. Sperm DNA damage: importance in the era of assisted reproduction. *Curr Opin Urol.* 2006 Nov;16(6):428-34.
139. Li E. Chromatin modification and epigenetic reprogramming in mammalian development. *Nat Rev Genet* (2002) 3:662–7310.1038/nrg887
140. Valinluck V, Tsai HH, Rogstad DK, et al. Oxidative damage to methyl-CpG sequences inhibits the binding of the methyl-CpG binding domain (MBD) of methyl-CpG binding protein 2 (MeCP2). *Nucleic Acids Res.* 2004; 32:4100–4108
141. Hou L, Zhang X, Wang D, Baccarelli A. Environmental chemical exposures and human epigenetics. *Int J Epidemiol.* 2012;41:79-105
142. Baccarelli A, Bollati V. Epigenetics and environmental chemicals. *Curr Opin Pediatr.* 2009;21:243–251.
143. Jirtle RL, Skinner MK. Environmental epigenomics and disease susceptibility. *Nat Rev Genet* (2007) 8(4):253–6210.
144. Gluckman PD, Hanson MA, Cooper C, Thornburg KL. Effect of in utero and early-life conditions on adult health and disease. *N Engl J Med.* 2008;359:61–73
145. R.J. Kavlock, G.P. Daston, C. DeRosa, P. Fenner-Crisp, L.E. Gray, S. Kaattari, *et al.* Research needs for the risk assessment of health and environmental effects of endocrine disruptors: a report of the U.S. EPA-sponsored workshop *Environ Health Perspect*, 104 (Suppl 4) (1996), pp. 715-740
146. Wetherill YB, Akingbemi BT, Kanno J, McLachlan JA, Nadal A, Sonnenschein C, Watson CS, Zoeller RT, Belcher SM. In vitro molecular mechanisms of bisphenol A action. *Reprod Toxicol.* 2007 Aug-Sep;24(2):178-98. Epub 2007 May 29.
147. G. Mileva, S.L. Baker, A.T. Konkle, C.A. Bielajew Bisphenol-A epigenetic reprogramming and effects on reproduction and behavior *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 11 (2014), pp. 7537-7561
148. Solakidi S, Psarra AMG, Nikolaropoulos S, Sekeris CE (2005) Estrogen receptors  $\alpha$  &  $\beta$  (ER  $\alpha$  and ER  $\beta$ ) and androgen receptor (AR) in human sperm: localization of ER and AR in mitochondria of the midpiece. *Hum Reprod* 20: 3481–3487
149. C.M. Klinge Estrogen receptor interaction with co-activators and co-repressors *Steroids*, 65 (5) (2000), pp. 227-251

150. Dong S, Terasaka S, Kiyama R. Bisphenol A induces a rapid activation of Erk1/2 through GPR30 in human breast cancer cells. *Environ Pollut.* 2011;159:212–8.
151. Wozniak AL, Bulayeva NN, Watson CS. Xenoestrogens at picomolar to nanomolar concentrations trigger membrane estrogen receptor-alpha-mediated Ca<sup>2+</sup> fluxes and prolactin release in GH3/B6 pituitary tumor cells. *Environmental health perspectives.* 2005;113:431–9.
152. Okada H, Tokunaga T, Liu X, Takayanagi S, Matsushima A, Shimohigashi Y. Direct evidence revealing structural elements essential for the high binding ability of bisphenol A to human estrogen-related receptor-gamma. *Environmental health perspectives.* 2008;116:32–8.
153. B.T. Akingbemi, C.M. Sottas, A.I. Koulova, G.R. Klinefelter, M.P. Hardy Inhibition of testicular steroidogenesis by the xenoestrogen bisphenol A is associated with reduced pituitary luteinizing hormone secretion and decreased steroidogenic enzyme gene expression in rat Leydig cells *Endocrinology*, 145 (2) (2004), pp. 592-603
154. K.H. Song, K. Lee, H.S. Choi Endocrine disrupter bisphenol a induces orphan nuclear receptor Nur77 gene expression and steroidogenesis in mouse testicular Leydig cells *Endocrinology*, 143 (6) (2002), pp. 2208-2215
155. C. Fiorini, A. Tilloy-Ellul, S. Chevalier, C. Charuel, G. Pointis Sertoli cell junctional proteins as early targets for different classes of reproductive toxicants *Reprod Toxicol*, 18 (3) (2004), pp. 413-421
156. Toyama, Y., Suzuki-Toyota, F., Maekawa, M., Ito, C., and Toshimori, K. Adverse effects of bisphenol A to spermiogenesis in mice and rats. *Arch Histol Cytol.* 2004; 67: 373–381
157. Chitra, K.C., Latchoumycandane, C., and Mathur, P.P. Induction of oxidative stress by bisphenol A in the epididymal sperm of rats. *Toxicology.* 2003; 185: 119–127
158. C.A. Harris, P. Henttu, M.G. Parker, J.P. Sumpter The estrogenic activity of phthalate esters in vitro *Environ. Health Perspect.*, 105 (1997), pp. 802-81
159. M. Manikkam, R. Tracey, C. Guerrero-Bosagna, M.K. Skinner Plastics derived endocrine disruptors (BPA, DEHP and DBP) induce epigenetic transgenerational inheritance of obesity, reproductive disease and sperm epimutations *PLoS One*, 8 (2013), p. e55387
160. N.J. Barlow, S.L. Phillips, D.G. Wallace, M. Sar, K.W. Gaido, P.M. Foster Quantitative changes in gene expression in fetal rat testes following exposure to di(*n*-butyl) phthalate *Toxicol. Sci.*, 73 (2003), pp. 431-441

161. M. Dalgaard, C. Nellemann, H.R. Lam, I.K. Sorensen, O. Ladefoged The acute effects of mono(2-ethylhexyl)phthalate (MEHP) on testes of prepubertal Wistar rats *Toxicol. Lett.*, 122 (2001), pp. 69-79
162. X.F. Zhang, T. Zhang, L. Wang, H.Y. Zhang, Y.D. Chen, X.S. Qin, *et al.* Effects of diethylhexyl phthalate (DEHP) given neonatally on spermatogenesis of mice *Mol. Biol. Rep.*, 40 (2013), pp. 6509-6517
163. C. Zhang, J.H. Lai, B. Hu, S. Zhang, J. Zhao, W. Li A chromatin modifier regulates Sertoli cell response to mono-(2-ethylhexyl) phthalate (MEHP) via tissue inhibitor of metalloproteinase 2 (TIMP2) signaling *Biochim. Biophys. Acta*, 1839 (2014), pp. 1170-1182
164. W. Li, W. Bao, J. Ma, X. Liu, R. Xu, R.A. Wang, *et al.* Metastasis tumor antigen 1 is involved in the resistance to heat stress-induced testicular apoptosis *FEBS Lett.*, 582 (2008), pp. 869-873
165. C. Latchoumycandane, P.P. Mathur Effect of methoxychlor on the antioxidant system in mitochondrial and microsome-rich fractions of rat testis *Toxicology*, 176 (2002), pp. 67-75
166. De Liz Oliveira Cavalli, V.L.; Cattani, D.; Heinz Rieg, C.E.; Pierozan, P.; Zanatta, L.; Benedetti Parisotto, E.; Wilhelm Filho, D.; Mena Barreto Silva, F.R.; Pessoa-Pureur, R.; Zamoner, A. Roundup disrupts male reproductive functions by triggering calcium-mediated cell death in rat testis and Sertoli cells. *Free Radic. Biol. Med.* 2013, 65, 335–34
167. Pant, N.; Shukla, M.; Upadhyay, A.D.; Chaturvedi, P.K.; Saxena, D.K.; Gupta, Y.K. Association between environmental exposure to p,p'-DDE and lindane and semen quality. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2014, 21, 11009–11016
168. N. Pant, A.K. Prasad, S.C. Srivastava, R. Shankar, S.P. Srivastava Effect of oral administration of carbofuran on male reproductive system of rat *Hum. Exp. Toxicol.*, 14 (1995), pp. 889-894
169. B. Saradha, S. Vaithinathan, P.P. Mathur Lindane induces testicular apoptosis in adult Wistar rats through the involvement of Fas-fasL and mitochondria-dependent pathways *Toxicology*, 255 (2009), pp. 131-139
170. M.A. Shalaby, H.Y. El Zorba, R.M. Ziada Reproductive toxicity of methomyl insecticide in male rats and protective effect of folic acid *Food Chem. Toxicol.*, 48 (2010), pp. 3221-3226
171. D. Shemi, U.A. SodMoriah, M. Abraham *et al.* of testicular cells in rats treated with dibromochloropropane (DBCP) *Andrologia*, 21 (1989), pp. 229-236
172. O. Mehrpour, P. Karrari, N. Zamani, A.M. Tsatsakis, M. Abdollahi Occupational exposure to pesticides and consequences on male semen and fertility: a review



Toxicol. Lett., 230 (2014), pp. 146-156

173. Gemma S, Vittozzi L, Testai E. Metabolism of chloroform in the human liver and identification of the competent P450s. *Drug Metab Dispos.* 2003 Mar;31(3):266-74.

174. Yuan J, Wu XJ, Lu WQ, Cheng XL, Chen D, Li XY, Liu AL, Wu JJ, Xie H, Stahl T, Mersch-Sundermann V. Chlorinated river and lake water extract caused oxidative damage, DNA migration and cytotoxicity in human cells. *Int J Hyg Environ Health.* 2005;208(6):481-8.

175. Nickmilder M, Bernard A. Associations between testicular hormones at adolescence and attendance at chlorinated swimming pools during childhood. *Int J Androl.* 2011 Oct;34(5 Pt 2):e446-58

176. Nieuwenhuijsen MJ, Martinez D, Grellier J, Bennett J, Best N, Iszatt N, Vrijheid M, Toledano MB. Chlorination disinfection by-products in drinking water and congenital anomalies: review and meta-analyses. *Environ Health Perspect.* 2009 Oct;117(10):1486-93.